

Aus dem Max-Planck-Institut für Systemphysiologie, Dortmund
(Direktor: Prof. Dr. med. D. W. Lübbers)

UNTERSUCHUNGEN ZUR MESSUNG DES INTRAKAPILLÄREN OXYGENIERUNGSGRADES AN DER MENSCHLICHEN HAUT

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines

Doktors der Medizin

der

Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin

an der Ruhr-Universität Bochum

von

MANFRED LEESER

aus Friedrichshafen

Bochum 1976

Aus dem Max-Planck-Institut für Systemphysiologie, Dortmund
(Direktor: Prof. Dr. med. D. W. Lübbers)

UNTERSUCHUNGEN ZUR MESSUNG DES INTRAKAPILLÄREN OXYGENIERUNGSGRADES AN DER MENSCHLICHEN HAUT

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines

Doktors der Medizin

der

Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin

an der Ruhr-Universität Bochum

von

MANFRED LEESER

aus Friedrichshafen

Bochum 1976

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Mai 1976

Referent : Professor Dr. Lübbers

Koreferent: Professor Dr. Niesel



INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	S. 4 - 6
II	METHODIK	S. 7 - 22
	1. Beschreibung des Hautmodells	
	a) Struktur und Gefäßversorgung der Haut	S. 7
	b) Postmortale Veränderungen der Kreis-	
	laufendstrecke	S. 10
	c) Optische Eigenschaften der Haut	S. 11
	2. Photometrie	
	a) Rapiidspektroskop T 13/3 nach D.W.Lübbers	
	und W.Niesel	S. 15
	b) Einstellung des Rapidphotometers und	
	Übernahme der Spektren auf Magnetband	S. 19
	c) Hämoglobinlösung	S. 20
	d) Holmiumoxidfilter	S. 21
III	AUSWERTVERFAHREN UND ANWENDUNG	S. 23 - 45
	1. 5-Wellenlängenverfahren nach R.Wodick und	
	D.W.Lübbers	S. 23
	2. Ausführung der Messungen bei der Anwendung	
	an der menschlichen Haut	S. 36
	3. Fehlerfortpflanzung in den einzelnen	
	Phasen der Berechnung des Oxygenierungs-	
	grades	S. 39
	a) Auswirkung der Meßfehler auf die	
	Eichung (Spalte)	S. 40

b) Auswirkung der Meßfehler aus den	
Messungen (Zeile)	S. 42
4. Statistische Auswertung	S. 44
IV EXPERIMENTE	S. 46 - 88
1. Wellenlängengenauigkeit des Rapidspektroskop	
T 13/3 nach D.W.Lübbers und W.Niesel . . .	S. 46
2. Empirische Bestimmung des Grundspektrums	
an Leichenhaut	S. 52
3. Prüfung der Brauchbarkeit von Modellhaut	
für die Testung des 5-Wellenlängenverfah-	
rens nach R.Wodick und D.W.Lübbers	S. 57
4. Testung des 5-Wellenlängenverfahrens nach	
R.Wodick und D.W.Lübbers an Hautmodellen	
verschiedener Individuen	S. 63
V DISKUSSION	S. 89 - 96
1. Photometrie.Rapidspektroskop T 13/3 nach	
D.W.Lübbers und W.Niesel	S. 89
2. Modellhaut	S. 89
3. 5-Wellenlängenverfahren nach R.Wodick und	
D.W.Lübbers	S. 93
VI ZUSAMMENFASSUNG	S. 97
ERKLÄRUNG DER SYMBOLE	S. 99
VII LITERATURVERZEICHNIS	S. 101
Danksagung	S. 103
Lebenslauf	S. 104

I EINLEITUNG

Der tierische und menschliche Organismus ist auf aerobe Energieproduktion angewiesen. Diese Energie wird im Zellstoffwechsel aus der enzymatischen Verbrennung von Substratwasserstoff an der Atmungskette der Mitochondrien bereitgestellt.

Um den Sauerstoff aus der Umgebung (Wasser, Luft) an die Atmungskette zu bringen, gibt es eine Folge spezieller Transportmechanismen, die sich für die Physiologie des Menschen schematisch wie folgt darstellen lassen:

1. Konvektiver Transport des Luftsauerstoffs durch Ventilation.
2. Diffusiver Transport als Verbindung zwischen Ventilation und Kreislauf.
3. Konvektiver Transport des gelösten oder chemisch gebundenen Sauerstoffs im Kreislaufsystem.
4. Diffusiver Transport aus dem Kreislaufsystem an die Atmungskette in den Zellen.

An zentraler Stelle dieses Schemas steht das Hämoglobin mit seinen besonderen Eigenschaften als Transportvehikel des chemisch gebundenen Sauerstoffs.

Sein optisches Verhalten bei der Sauerstoffbindung kann man zur photometrischen Untersuchung der Sauerstoffbeladung des Blutes, der Oxymetrie, benutzen. Seit den dreißiger Jahren unseres Jahrhunderts hat sich die Oxymetrie in engem Zusammenhang mit dem technischen Stand der Photometrie entwickelt. Erst die modernen Photometer sind in der Lage, in kurzer Zeit

das gesamte Transmissions- oder Extinktionsspektrum zu liefern. Damit bieten sie die notwendige Information, um die komplizierten optischen Systeme mit theoretisch-physikalischen Modellen nachzuvollziehen und exakter quantitativ auswertbar zu machen. Dies ist technisch durch den Einsatz der elektronischen Datenverarbeitungsanlagen möglich geworden.

Nachdem die grundsätzlichen Gesetzmäßigkeiten der photometrischen Analyse von Mehrkomponentensystemen mit inhomogener Verteilung in mehreren Kompartimenten mit wellenlängenabhängigen Störungen mit Hilfe der Queranalyse (Wodick, R. und D. W. Lübbers, 1973 a) erfaßt waren, konnte versucht werden, die Meßanordnung zu vereinfachen. Das 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers (Wodick, R. und D. W. Lübbers, 1973 b) erlaubt mit vergleichsweise einfacher Meßanordnung und Meßwertauswertung Untersuchungen über die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins am biologischen Objekt. Dieses Verfahren wurde inzwischen von den Autoren weiter vereinfacht. Ziel der folgenden Untersuchungen ist es, die Anwendbarkeit dieser weiteren Vereinfachung des Verfahrens am Beispiel der menschlichen Haut zu prüfen.

Die Photometrie ermöglicht Untersuchungen an einem intakten biologischen System, das in seiner Ganzheit auf andere Weise nicht zugänglich ist. Daher ist eine echte Kontrollmethode häufig nur unter Schwierigkeiten anwendbar. Für oxymetrische Untersuchungen an der Haut liegt die Schwierigkeit in der Tatsache, daß das Hämoglobin im Gewebe nicht gleichmäßig oxygeniert ist, sondern daß die Sauerstoffsättigung von der Arterie zur Vene

hin abfällt. Durch lokale Entnahme ist nur Blut zu gewinnen, dessen mittlere Sauerstoffsättigung nicht repräsentativ für die mit dem Photometer erfaßten Hautschichten sein muß. Deshalb wurde versucht, ein wirklichkeitsnahes Modell zu finden, in dem das Hämoglobin in einem homogenen und definierten Zustand vorliegt.

Wie in der folgenden Arbeit gezeigt wird, ist die menschliche Leichenhaut als Modell gut geeignet und erlaubt, das 5-Wellenlängenverfahren quantitativ zu testen.

II METHODIK

1. Beschreibung des Hautmodells

a) Struktur und Gefäßversorgung der Haut

Die Haut als Organ ist ein kompliziertes Gebilde mit vielerlei Strukturen und Funktionen, wie die erste Abbildung zeigt, die einen senkrecht durch die Haut geführten Schnitt darstellt. Die Gefäßversorgung ist der besseren Übersicht wegen in Abbildung 2 gesondert dargestellt.

Aus den großen, subkutanen arteriellen Gefäßen gelangt Blut in das kutane Netz, aus dem die miteinander anastomosierenden Kandelaberarterien aufsteigen und aus ihren Endästen die Papillargefäße mit den Papillarkapillaren abgeben. Die postkapillären Venen des Papillarkörpers münden in das engmaschige subpapilläre Venennetz ("venöses Hauptnetz" nach Petersen (Petersen, H., 1935), "erstes und zweites venöses Netz" nach Spalteholz (Spalteholz, W., 1927)). Aus dem sich anschließenden großkalibrigen "dritten Venennetz" nach Spalteholz fließt das Blut in das kutane Venennetz. Die aus diesem Netz abziehenden Gefäße sind die makroskopisch sichtbaren subkutanen Venen.

Für die Reflexionsphotometrie bzw. für die Oxymetrie sind aus dem dargestellten Bereich die Epidermis und der oberflächen-nahe Anteil der Cutis mit der Gefäßversorgung hinsichtlich der optischen Eigenschaften von Interesse. An Hautstellen, die von außen keine größere Gefäße erkennen lassen, wie z. B.

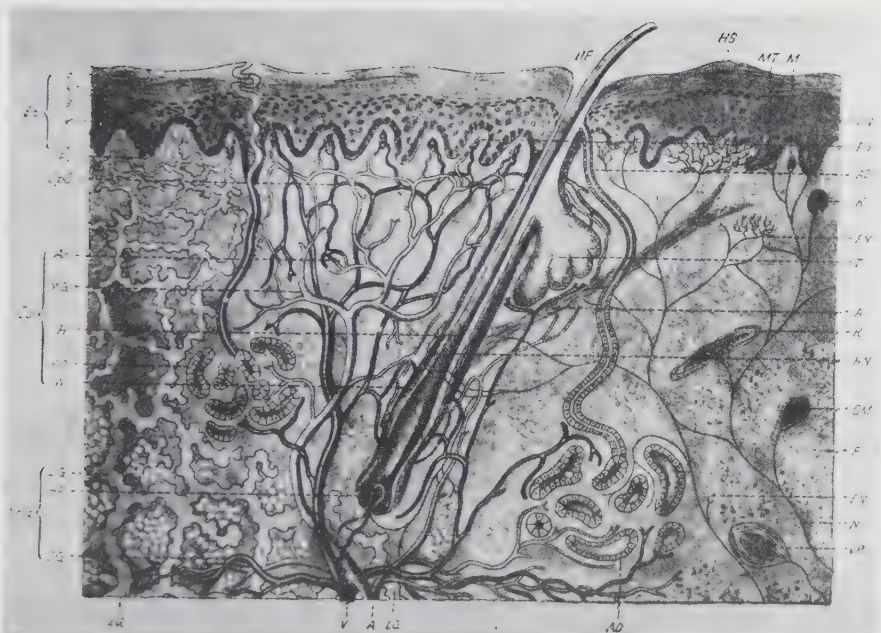


Abbildung 1

Schematischer Querschnitt der menschlichen Haut. Links Lymphbahnen (LG), Mitte Blutgefäße (A Arterien, V Venen), rechts Nerven eingezeichnet. Ep Epidermis: c Stratum corneum, l lucidum, g granulosum, cy cylindricum, r germinativum Malpighii, Pi Pigment, Co Corium. UFG Unterhautfettgewebe (F Fettläppchen). H Haar, HF Haarfollikel, HS Haarscheide. Ar Arrector pili, T Talgdrüse, W Wurzelscheide, HP Haar-papille. PG Papilläre Gefäße, SpG Subpapillares, MG mittleres, SG subkutanes Gefäßnetz, An arteriovenöse Anastomose. N gemischter Nerv, EN freie Nervenendigungen im Epithel. Nach E. Hoffmann, zitiert nach Meyer-Seitz.

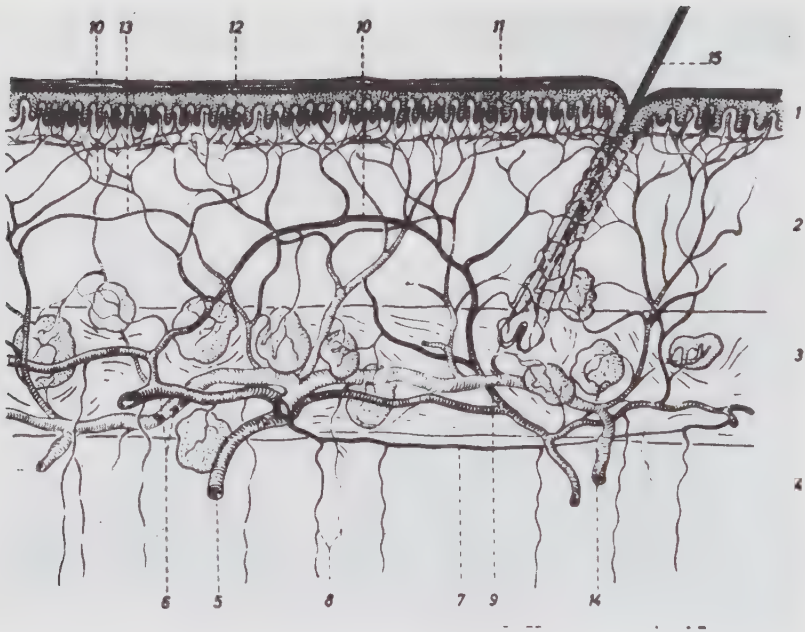


Abbildung 2

Schema der Arterien- und Venenverteilung.

1. Epidermis und Papillarkörper, 2. Cutis, 3. Gefäßdrüsen-
schicht mit Schweißdrüsenknäueln, 4. Subcutis, 5. aus der
Subcutis aufsteigende Arterie, 6. große Arterie und Vene
des kutanen Netzes, 7. dünnes Horizontalgefäß des kutanen
Arteriennetzes, 8. Gefäße für die Fettläppchen der Cutis,
9. aufsteigende Kandelaber-Arterie, 10. Verbindungsbögen
zwischen den Kandelaber-Arterien, deren 11. Endäste mit
Papillargefäßen besetzt sind, 12. venöses Hauptnetz
("1. und 2. Venennetz" nach Spalteholz), 13. "3. Venennetz",
14. Abfluß zu den subkutanen Venen. 15. Haar mit Wurzel und
deren Gefäßversorgung (aus Horstmann).

an den Fingerkuppen, Interdigitalfalten oder Ohrläppchen, wird das Aussehen der durchbluteten Haut nur von den Endästen der Kandelaberarterien, den Papillarkapillaren und den Gefäßen des subpapillären Venennetzes beeinflusst. Diese Hautstellen eignen sich besonders für die Photometrie am lebenden Menschen.

b) Postmortale Veränderungen der Kreislaufendstrecke

In dem Schockzustand, der dem Eintritt des Todes in der Regel vorangeht, ist die Haut nicht durchblutet und blaß. Während der Agonie und nach dem Eintritt des endgültigen, zentralen Kreislaufstillstandes sinkt das Blut der Schwere nach in die abhängigen Partien der Haut und der inneren Organe. Die dadurch zustande gekommenen multiplen Blutansammlungen im Kapillarnetz der Cutis sind in der Regel als dunkelrote, hypostatische Totenflecke sichtbar (Letterer, E., 1959).

Im weiteren Verlauf vergrößern sich die anfänglich kleinen Flecken und konfluieren. Zunächst verschwinden sie noch auf mäßigen Druck von außen; mit zunehmendem Leichenalter wird das Wegdrücken schwieriger, bis es endlich nicht mehr möglich ist. Nach Hilgermann (Hilgermann, R., 1973) sind über die gesamte Zeit die Erythrocyten äußerlich meist noch intakt, es bilden sich lediglich Zusammenlagerungen und Verformungen aus. Der zeitliche Ablauf dieser Veränderungen schwankt nach einer Zusammenstellung von Hilgermann in weiten Grenzen und kann bis zu 36 Stunden dauern.

Eigene histologische Untersuchungen⁺ zeigen, wie in Abbildung 3 und 4 dargestellt, im Bereich der Totenflecke teils mit Erythrocyten gefüllte, teils leere kapilläre und postkapilläre Gefäße. Die Erythrocyten sind äußerlich noch intakt, teilweise verformt, häufig dicht aneinandergelagert. Man sieht Geldrollenbildung. Fibrin findet sich selten in den Kapillaren.

Nach diesen Bildern sind die Verhältnisse in den Totenflecken hinreichend ähnlich denen in der durchbluteten Haut. Die Farbe der Totenflecken wird durch Hämoglobin in weitgehend intakten Erythrocyten bewirkt. Die Zahl der Erythrocyten gewährleistet für optische Untersuchungen ein ausreichendes Hämoglobinsignal.

c) Optische Eigenschaften der Haut

Das Aussehen der Haut, wie sie sich dem betrachtenden Auge darbietet, wird in der Hauptsache von den obersten Hautschichten bestimmt. Die spektrale Durchlässigkeit dieser Schichten zeigt eine Untersuchung aus der Anfangszeit der Photometrie, deren Ergebnis in Abbildung 5 dargestellt ist.

Man sieht, daß im Wellenlängenbereich zwischen 500 und 600 nm in allen Hautschichten eine Absorption stattfindet. Auch wenn in der Epidermis relativ wenig Licht absorbiert wird, entsteht hier, wie auch in der stärker absorbierenden Papillarschicht, eine Absorptionskurve, die nicht vom Hämoglobin geprägt wird.

⁺Für Beratung und histologische Bearbeitung einschließlich Fotografie danke ich Frau Dr. Seidl.



Abbildung 3

Transversalschnitt durch die Haut. Intakte Erythrocyten (→)
in den Kapillaren. Färbung H.E.



Abbildung 4

Transversalschnitt durch die Haut. Intakte Erythrocyten (→) in den Kapillaren. Färbung Masson-Goldner

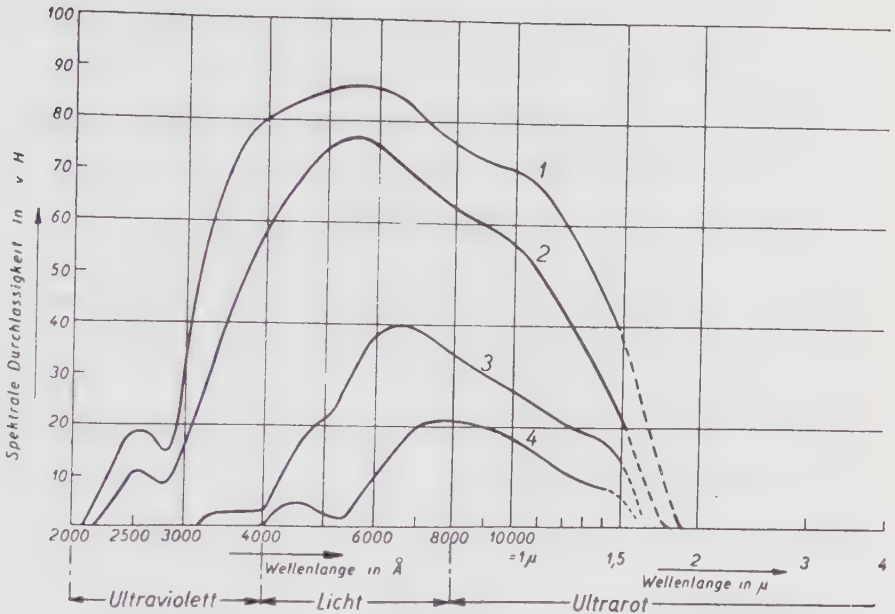


Abbildung 5

Spektrale Durchlässigkeit verschiedener Hautschichten (nach Bachem, 1931).

Kurve 1 für Hornschicht 0,03 mm dick,

Kurve 2 für Epidermis 0,05 mm dick,

Kurve 3 für Epidermis und Papillarschicht 0,5 mm dick,

Kurve 4 für die gesamte aus Epidermis und Corium bestehende Haut 2 mm dick.

Beschaffenheit und Dicke der Hornschicht, Hautfeuchtigkeit und Fettgehalt, Faltenbildung als Folge der elastischen Eigenschaften und Pigmentgehalt der Basalzellschicht können sicher in ihrer unterschiedlichen Ausprägung ein solches Hautspektrum variieren.

Die Abbildung 6 zeigt den Einfluß eines unterschiedlichen Melaningehaltes. Gleichzeitig zeigt sich hier, und darauf kommt es in der Oxymetrie der Haut wesentlich an, der prägende Anteil, den das Blut bzw. das Hämoglobin an dem Zustandekommen des Hautspektrums besitzt.

2. Photometrie

a) Rapidspektroskop nach D. W. Lübbers und W. Niesel

Für die Messung der Spektren benutzten wir das Rapidspektroskop T 13/3 nach D. W. Lübbers und W. Niesel (Lübbers, D. W. und W. Niesel, 1959; Niesel W., Lübbers, D. W., Schneewolf, D., Richter, J., Botticher, W., 1964), das von der Meßgeräteabteilung der Howaldtwerke in Kiel gebaut wird.

Dieses Zweistrahlphotometer nimmt ein vollständiges Extinktionsspektrum mit 500 Meßwerten in 10^{-2} s auf. Der Spektralbereich kann zwischen 230 nm und 700 nm frei gewählt werden. Das Gerät ist so gebaut, daß im durchfallenden und reflektierten Licht gemessen werden kann. Die hohe Registriergeschwindigkeit erlaubt das Arbeiten an Objekten, die sich zeitlich und örtlich ändern. Bei konstanten Verhältnissen sind Mittelwertsbildungen

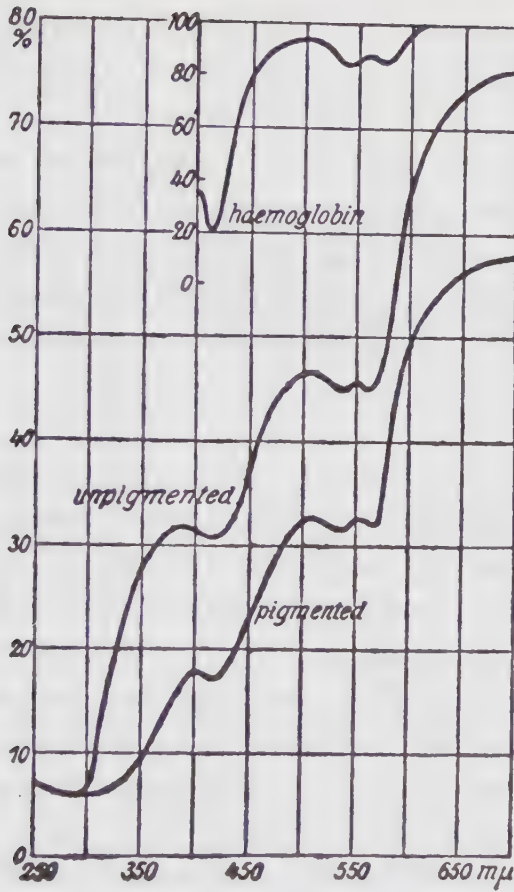


Abbildung 6

Reflexionsspektren von unpigmentierter und pigmentierter menschlicher Haut. Transmissionskurve von Hämoglobin zum Vergleich (nach Rottier, P. B., 1954).

möglich, durch die ein verbessertes Signal-Rausch-Verhältnis erhalten werden kann.

Bei dem Rapidspektroskop wird die Veränderung der Wellenlänge durch einen Schwingspiegel erreicht, der in seiner Eigenfrequenz schwingt und das Licht unter wechselndem Einfallswinkel auf das Gitter eines Monochromators lenkt. Die Frequenz beträgt 50 Hz, so daß für das Durchmessen eines Spektrums 10 ms benötigt werden.

Das monochromatische Licht fällt in eine optische Brücke. Ein zweiter Schwingspiegel leitet das Licht mit einer Frequenz von 25 kHz einmal auf das Meßobjekt, zum anderen auf ein Vergleichsobjekt. So kommt es während eines Spektrums zu 500 Umschaltungen. Da die Schwingungen der beiden Spiegel nicht gekoppelt sind, liegen die Umschaltungen nicht genau bei der gleichen Wellenlänge. Außerdem ist die Zahl der Umschaltungen an den Umkehrpunkten des ersten Schwingspiegels größer als im mittleren Bereich, wie aus Abbildung 7 zu entnehmen ist. Dies bedingt eine nichtlineare Wellenlängenskala und beschränkt bei Spektren mit stark veränderlichen Extinktionen den Wellenlängenbereich.

Die Strahlenbündel des Meß- und Vergleichslichtes gelangen in eine Ulbrichtsche Kugel, wo sie diffus gestreut werden und nacheinander zum gleichen Photomultiplier gelangen. Die Spannungsimpulse von Meß- und Vergleichskanal passieren einen logarithmischen Verstärker und werden mittels eines elektronischen Schalters getrennt. Durch Differenzbildung wird der

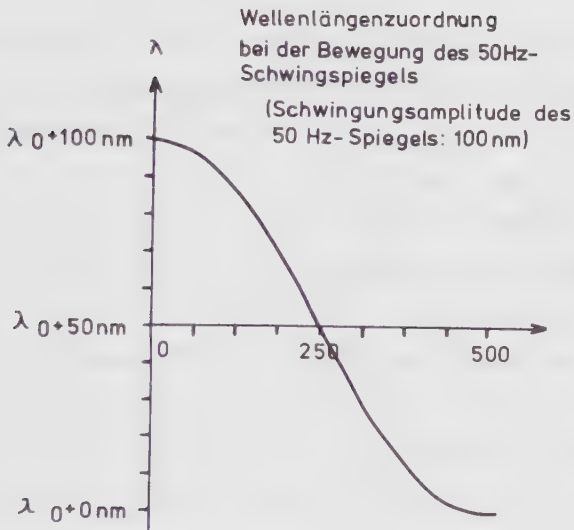


Abbildung 7

Die Funktion $\lambda = \lambda_0 + \frac{A}{2} \sin \left(\frac{360^\circ \cdot n}{10^3} - 90^\circ \right) + \frac{A}{2}$ beschreibt die Umrechnung des nichtlinearen Wellenlängenmaßstabes n in den linearen Wellenlängenmaßstab λ . Dabei ist A die Schwingungsamplitude des 50-Hz-Spiegels. Sie beträgt hier $A = 100 \text{ nm}$.

Quotient aus Meß- und Vergleichskanal gebildet und als Extinktion registriert. Die Spannung des Vergleichskanals wird zum Regeln der Hochspannung des Sekundärelektronenvervielfachers verwendet.

Die Umrechnung der n-Meßwerte ($n = 1, 2, 3, \dots 500$) der nicht-linearen Wellenlängenskala des Photometers in die übliche lineare Wellenlängenskala, z. B. in nm, ist auf folgende Weise möglich:

$$\lambda = \frac{A}{2} \sin (\alpha - 90^\circ) + \frac{A}{2} ,$$

wobei in unserem Fall

λ = Wellenlänge

A = Schwingungsamplitude des 50 Hz-Spiegels

$$\text{Für } \alpha = 2 \pi \frac{\Delta t \cdot n}{T}$$

mit $\Delta t = 2 \cdot 10^{-5}$ s (entsprechend 25 kHz)

und $T = 20$ ms (entsprechend 50 Hz)

erhalten wir für die Wellenlängenabschnitte $\Delta \lambda$

$$\Delta \lambda = \frac{A}{2} \sin \left(\frac{360^\circ \cdot n}{10^3} - 90^\circ \right) + \frac{A}{2} .$$

b) Einstellung des Rapidphotometers und Übernahme der Spektren auf Magnetband

Bei den oxymetrischen Untersuchungen wurde der Spektralbereich am Photometer zwischen 500 und 600 nm so eingestellt, daß das bei 558 nm zwischen zwei Extinktionsmaxima liegende Extinktionsminimum des Hämoglobinspektrums etwa die Mitte des Registrier-

bereiches einnahm. So konnte der optimale Auflösungsbereich des Photometers ausgenutzt werden.

Die registrierten Spektren können auf einem Oszillographenschirm dargestellt, gleichzeitig über einen Analog-Digitalwandler in einen Prozeßrechner DDP 516 der Firma Honeywell übernommen und auf Magnetband gespeichert werden. Wir haben bei den Versuchen nur gemittelte Spektren zur Auswertung herangezogen; die Mittelung geschah über ein Assemblerprogramm: Nach der Umwandlung der analogen Extinktionssignale in binär codierte, digitale Signale werden diese in den entsprechenden Speichern des Rechners über $2^5 = 32$ Spektren aufsummiert und durch eine Verschiebung um fünf Stellen gemittelt. Dieses gemittelte Spektrum schreibt der Rechner zur Speicherung auf das Magnetband. Solche auf Band gespeicherte, gemittelte Spektren werden mit einem Programm ausgewertet, das in Fortran IV geschrieben ist.⁺

c) Hämoglobinlösung

Hämoglobinlösung, wie wir sie zur Registrierung der Küvettenpektren benötigten, wurde auf folgende Weise hergestellt: 5 ml Blut werden mit 0,1 ml Liquemin aufgezogen und 10 Minuten lang mit 1500 g zentrifugiert. Der Überstand wird abgehoben und verworfen, das Sediment mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt. Danach wird das Sediment mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 1 vermischt und für zwei Stunden in den Kühlschrank gestellt. Das Hämolysat

⁺Für die Übernahme in den Rechner und die Berechnungen danke ich Frau B. Borrek und Herrn L. Teckhaus

wird eine Stunde lang bei 29000 g zentrifugiert und der klare Überstand entnommen. Die so gewonnene Hämoglobinlösung wird mit der gleichen Menge von 0,15 molarem Phosphatpuffer auf pH 7,38 eingestellt. Die Verdünnung des Hämoglobins auf die im Versuch erwünschte Konzentration erfolgt mit solchem Phosphatpuffer, der mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 1 verdünnt wurde.

Zur vollständigen Oxygenierung wird die Hämoglobinlösung 30 Sekunden lang mit reinem Sauerstoff durchperlt. Der Oxygenierungsgrad läßt sich an der Form des Spektrums kontrollieren. Durch die Zugabe einiger Körnchen Natriumdithionit wird das Hämoglobin in der Lösung vollständig desoxygeniert.

d) Holmiumoxidfilter

Für einige Testuntersuchungen wurde ein Holmiumoxidfilter benutzt. Dieses optische Filter zeigt bei etwa 445 nm Wellenlänge ein Extinktionsmaximum mit spitzem Gipfel und steil abfallenden Flanken (siehe Abbildung 8). Es ist damit unter anderem auch für Wellenlängenbestimmungen sehr gut geeignet, da ein solcher Peak gegenüber Extinktionsschwankungen, wie sie etwa durch Rauschen hervorgerufen werden, relativ unempfindlich ist.

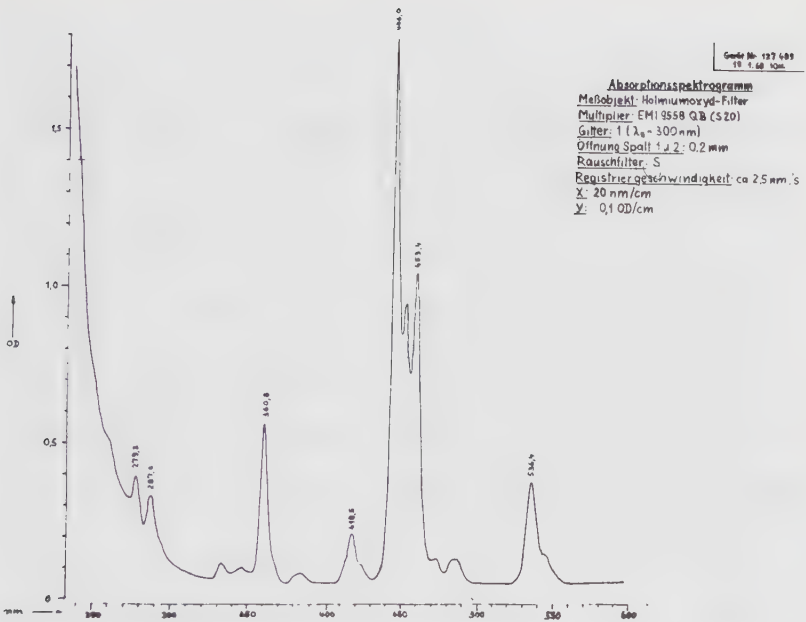


Abbildung 8

Extinktionsverlauf des Holmiumoxidfilters in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ .

III AUSWERTVERFAHREN UND ANWENDUNG

1. 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers

Das Hämoglobin bestimmt an der gut durchbluteten Haut die Reflexionsspektren, wie man aus dem Vergleich zwischen einem vollständig oxygenierten Hämoglobin-Küvettenspektrum mit einem volloxygenierten Hautspektrum der Fingerbeere in Abbildung 9 sehen kann. Eine vollständige Oxygenierung des Kapillarblutes der Haut läßt sich durch Sauerstoffatmung des Probanden bei Hyperämie der Fingerbeere durch Finalgon^R und ein zusätzliches Wasserbad mit der Temperatur von 41 °C bewirken (Huch, R., D. W. Lübbers und A. Huch, 1972; Siggard-Andersen, O., K. Jørgensen und N. Noer^Ø, 1962). Der Unterschied zwischen dem Küvettenspektrum $M(\lambda)$ und dem Reflektionsspektrum der Haut $G(\lambda)$ ist deutlich zu sehen. Es ist möglich, $G(\lambda)$ als transformiertes Spektrum des Küvettenspektrums $M(\lambda)$ aufzufassen. Abbildung 10 zeigt eine solche Transformation $G = H(M)$. Diese ist nicht linear und nicht eindeutig. Die Nichtlinearität hat ihre Ursache in der Inhomogenität der Lichtwege bei der Hautreflexion (Wodick, R., 1968). Die Mehrdeutigkeiten können bedingt sein durch unbekannte Störkomponenten, die dem Hämoglobinspektrum überlagert sind, oder durch die Wellenlängenabhängigkeit der inhomogenen Lichtwegverteilung (Lübbers, D. W. und R. Wodick, 1972).

Bei der Auswertung der Hautreflexionsspektren mit dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers gelingt es, Störungen, die nicht wesentlich vom Oxygenierungsgrad abhängen,

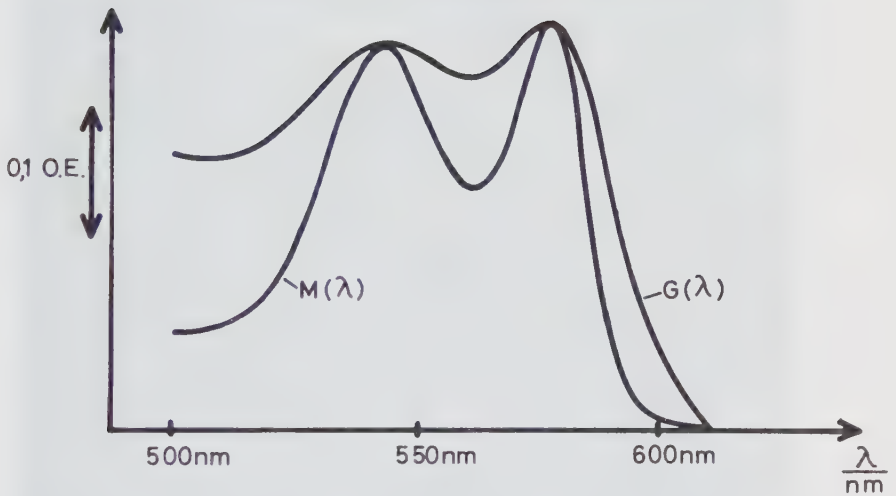


Abbildung 9

$M(\lambda)$ ist das Extinktionsspektrum einer volloxygenierten Hämoglobinlösung im Wellenlängenbereich von 500 - 620 nm. $G(\lambda)$ ist ein entsprechendes volloxygeniertes Hautspektrum (aus R. Wodick und D. W. Lübbers, 1973 b).



Abbildung 10

$G = H(M)$ ist die Transformation zwischen dem Küvettenspektrum $M(\lambda)$ (Abszisse) und dem Hautspektrum $G(\lambda)$ (Ordinate) der Abbildung 9 (aus R. Wodick und D. W. Lübbers, 1973 b).

zu eliminieren, so daß man den Oxygenierungsgrad des Kapillarblutes berechnen kann. Diese Auswertung benutzt Extinktionen an fünf Wellenlängen λ_i , für $i = 1, 2, \dots 5$ im Spektralbereich zwischen 500 und 600 nm, die an einem volloxygenierten Hämoglobin-Küvettenspektrum bestimmt werden. Dabei ist λ_2 die Wellenlänge des ersten Extinktionsmaximums bei etwa 542 nm, λ_4 die Wellenlänge des zweiten Extinktionsmaximums bei etwa 578 nm. λ_3 ist die Wellenlänge des zwischen diesen beiden Extinktionsmaxima liegenden Extinktionsminimums bei 558 nm. Bei λ_1 und λ_5 zeigt das Spektrum dieselben Extinktionswerte wie bei λ_3 . Abbildung 11 zeigt die gewählten Wellenlängen.

Das Hautspektrum $G(\lambda)$ ist aufzufassen als Transformation des Küvettenpektrums $M(\lambda)$.

$$G(\lambda) = H(M(\lambda)) + \log \gamma + S(\lambda) \quad (1)$$

Dabei bedeutet:

H die oben näher erläuterte, nichtlineare Transformation der Spektren,

γ den in nicht zu großen Wellenlängenbereichen als konstant anzusehenden Anteil des Lichtes, der bei einem entsprechenden, aber nicht absorbierenden Objekt in den Empfänger gelangt,

$S(\lambda)$ eine Störfunktion, die dem Spektrum überlagert ist.

Für das Auswertverfahren wird die Transformation $H(M)$ in dem in Frage kommenden Extinktionsbereich durch eine Gerade angenähert.

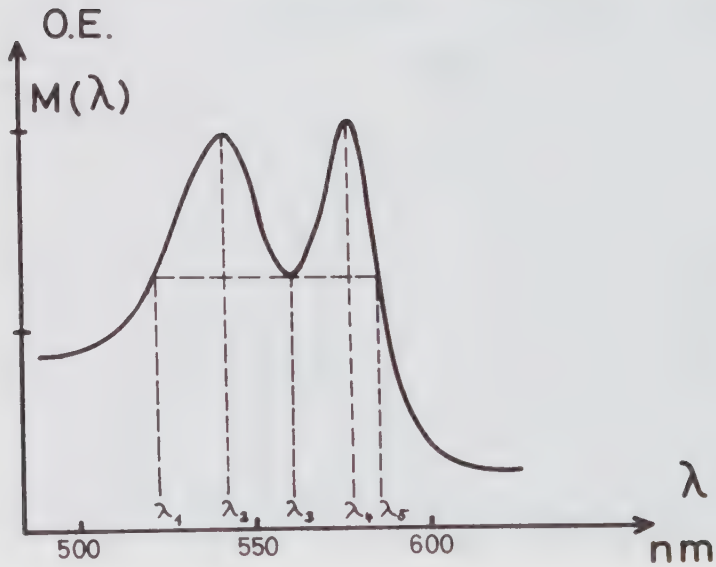


Abbildung 11

$M(\lambda)$ ist das Extinktionsspektrum vom volloxygenierten Hämoglobin. $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \lambda_5$ sind die für das Auswertverfahren benutzten Wellenlängen (aus R. Wodick und D. W. Lübbers, 1973 b).

Dann ist $H(M(\lambda)) = k M(\lambda) + b$ (2)

und die vollständige Formel lautet, nachdem (2) in (1) eingesetzt ist

$$G(\lambda) = k \cdot M(\lambda) + b + \log \gamma + S(\lambda) \quad (3)$$

Für die Wellenlänge λ_2 lautet die Gleichung

$$G_2 = k \cdot M_2 + b + \log \gamma + S_2 \quad (4)$$

Dabei bedeutet:

M_2 oder G_2 : Extinktion des Spektrums M oder G an der Wellenlänge λ_2 .

und an der Stelle λ_3

$$G_3 = k \cdot M_3 + b + \log \gamma + S_3 \quad (5)$$

dann ist

$$G_2 - G_3 = k \cdot M_2 - k \cdot M_3 + S_2 - S_3 \quad (6)$$

Durch Einführung eines Faktors α kann man bei $\lambda_2, \lambda_3, \lambda_4$ das Fehlerspektrum $S(\lambda)$ eliminieren. Es sei

$$P = \alpha \cdot G_2 + (1 - \alpha) G_4 - G_3 \quad (7)$$

$$\begin{aligned} &= \alpha \cdot k \cdot M_2 + (1 - \alpha) \cdot k \cdot M_4 - k \cdot M_3 + \\ &\quad \alpha S_2 + (1 - \alpha) S_4 - S_3 \end{aligned} \quad (8)$$

Setzt man

$$\alpha S_2 + (1 - \alpha) S_4 - S_3 = 0 \quad (9)$$

ergibt sich das α , für das das Fehlerspektrum Null wird als

$$\alpha = \frac{S_3 - S_4}{S_2 - S_4} \quad (10)$$

α wird als Eliminationskonstante bezeichnet.

In einem weiteren Ausdruck Q werden die Extinktionen an den Wellenlängen λ_1 und λ_5 eingeführt.

$$Q = G_2 + (1 - \alpha) G_4 - \beta G_1 - (1 - \beta) G_5 \quad (11 a)$$

Für $\frac{P}{Q}$ erhält man

$$\frac{P}{Q} = \frac{\alpha \cdot G_2 + (1 - \alpha) \cdot G_4 - G_3}{\alpha \cdot G_2 + (1 - \alpha) \cdot G_4 - \beta \cdot G_1 - (1 - \beta) \cdot G_5} \quad (11 b)$$

Wenn man die Formel (3) in die Formel (11 b) einsetzt, ergibt sich für diesen Ausdruck

$$\frac{P}{Q} = \frac{k (\alpha \cdot M_2 + (1 - \alpha) M_4 - M_3 + \alpha \cdot S_2 + (1 - \alpha) S_4 - S_3)}{k (\alpha \cdot M_2 + (1 - \alpha) M_4 - \beta \cdot M_1 - (1 - \beta) M_5 + \alpha \cdot S_2 + (1 - \alpha) S_4 - \beta \cdot S_1 - (1 - \beta) S_5)} \quad (12)$$

Mit (9) und

$$\alpha \cdot S_2 + (1 - \alpha) S_4 - \beta \cdot S_1 - (1 - \beta) S_5 = 0 \quad (13)$$

ist

$$\beta = \frac{S_3 - S_5}{S_1 - S_5} \quad (14)$$

Mit α und β ist $S(\lambda)$ in (8) und (11) eliminiert. Die angenäherte Transformation $H(M(\lambda)) = k M(\lambda) + b$ erlaubt die Elimination der Transformation von H . Daher kann die Bestimmung von β am HbO_2 -Spektrum der Haut erfolgen.

$$\beta = \frac{k ((M_3 + S_3) - (M_5 + S_5))}{k ((M_1 + S_1) - (M_5 + S_5))} \quad (15)$$

Da beim voll O_2 -gesättigten Hb -Spektrum $M_3 = M_1 = M_5$, kann man schreiben

$$\beta = \frac{G_3 - G_5}{G_1 - G_5} \quad (16)$$

Für die Bestimmung von α kann man in der von den Autoren des 5-Wellenlängenverfahrens vorgeschlagenen Vereinfachung das HbO_2 -Spektrum der Haut benutzen. Man erhält dann $\tilde{\alpha}$ anstelle von α . Näherungsweise läßt sich das Fehlerspektrum $S(\lambda)$ zwischen λ_3 und λ_5 als eine Gerade auffassen. Aus Abbildung 12 kann man ersehen, daß es dann möglich ist, den Wert von S_4 aus S_3 und S_5 abschätzen.

$$\frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} = \frac{S_3 - S_4}{S_3 - S_5}$$

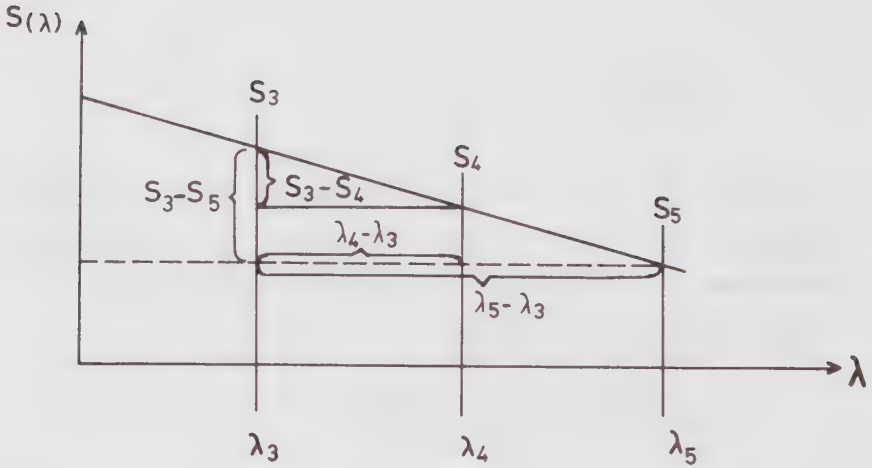


Abbildung 12

Betrachtung des Fehlerspektrums $S(\lambda)$ als Gerade. Abschätzung von S_4 durch lineares Interpolieren zwischen S_3 und S_5 . Dabei ist

$$\frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} = \frac{S_3 - S_4}{S_3 - S_5}$$

Umgeschrieben lautet die Formel dann

$$\frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} \cdot (S_3 - S_5) = S_3 - S_4 \quad (17)$$

In (10) kann man dann (17) einsetzen und erhält

$$\tilde{\alpha} = \frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} \cdot \frac{(S_3 - S_5)}{(S_2 - S_4)} \quad (18)$$

Betrachtet man den formal gleich gebauten Ausdruck

$$\frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} \cdot \frac{G_3 - G_5}{G_2 - G_4} \quad (19)$$

und setzt in (19) die Gleichung (3) an den entsprechenden Stellen λ_i ein

$$\frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} \cdot \frac{k \cdot (M_3 - M_5) + S_3 - S_5}{k \cdot (M_2 - M_4) + S_2 - S_4} \quad (20)$$

dann sieht man: Wenn $M_3 = M_5$ und $M_2 = M_4$ ist, besitzen beide Klammerinhalte in (20) den Betrag 0; (19) ist also dem Wert $\tilde{\alpha}$ gleichzusetzen, und man kann $\tilde{\alpha}$ bestimmen aus

$$\tilde{\alpha} = \frac{\lambda_4 - \lambda_3}{\lambda_5 - \lambda_3} \cdot \frac{G_3 - G_5}{G_2 - G_4} \quad (21)$$

Wenn die vorgenommenen Näherungen möglich sind, sind aus dem volloxygenierten Hautspektrum die Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ und β zu bestimmen.

Für

$$Q = \tilde{\alpha} G_2 + (1 - \tilde{\alpha}) \cdot G_4 - \beta \cdot G_1 - (1 - \beta) \cdot G_5 \quad (11 \text{ a})$$

$$P = \tilde{\alpha} G_2 + (1 - \tilde{\alpha}) \cdot G_4 - G_3 \quad (11 \text{ b})$$

ist damit das Fehlerspektrum $S(\lambda)$ eliminiert.

Betrachtet man nun die Gleichung (1) für einen beliebigen Oxygenierungsgrad zwischen 0 - 100 %, so ist

$$M(\lambda) = g \cdot c \cdot z_O \cdot \varepsilon_1(\lambda) + (1 - g) \cdot c \cdot z_O \cdot \varepsilon_2(\lambda) \quad (22)$$

wobei g der Oxygenierungsgrad

c die Gesamtkonzentration des Hämoglobins

z_O eine Schichtdicke, auf die die Küvettenpektren $M(\lambda)$ bezogen sind

$\varepsilon_1(\lambda)$, $\varepsilon_2(\lambda)$ die molaren Extinktionskoeffizienten des oxygenierten bzw. des desoxygenierten Hämoglobins

Wenn man (22) in (1) einsetzt, so lautet die Gleichung für einen beliebigen Oxygenierungsgrad

$$G(\lambda) = H (g \cdot c \cdot z_O \cdot \varepsilon_1(\lambda) + (1 - g) \cdot c \cdot z_O \cdot \varepsilon_2(\lambda)) + \log \gamma + S(\lambda) \quad (23)$$

Auch bei einem solchen Spektrum $G(\lambda)$ mit beliebigem Oxygenierungsgrad $0 \leq g \leq 100$ % gilt, daß mit $\tilde{\alpha}$ und β aus dem dazugehörigen Spektrum $G^{100}(\lambda)$ in P^G und Q^G das Fehlerspektrum $S(\lambda)$ und die Transformation $H(M)$ eliminiert sind. Bei den Indizes bedeuten die Zahlen 0 bzw. 100 den Oxygenierungsgrad 0 % bzw.

100 %; G besagt, daß die Größe für das gemessene Spektrum $G(\lambda)$ gilt; M bezieht sich auf $M(\lambda)$. Die Indizes 1 bis 5 bezeichnen die jeweilige Wellenlänge.

Nach 11 b ist der Quotient

$$\frac{P}{Q}$$

unabhängig von dem Fehlerspektrum $S(\lambda)$ und von der Transformation $H(M)$, er ist zusätzlich unabhängig von der Konzentration des Hämoglobins und von einer konstanten Verschiebung des Spektrum zu größeren oder kleineren Extinktionen.

Mit den Werten P_{100}^M und Q_{100}^M aus dem volloxygenierten Hämoglobin-Küvettenpektrum und den Werten P_O^M und Q_O^M aus dem desoxygenierten Hämoglobin-Küvettenpektrum sowie mit P^G und Q^G kann unter Verwendung des Quotienten $\frac{P}{Q}$ ein Gleichungssystem aufgestellt und nach g aufgelöst werden. Der Oxygenierungsgrad berechnet sich dann nach der Formel

$$g = \frac{P_O^M Q^G - P^G Q_O^M}{P^G (Q_{100}^M - Q_O^M) - Q^G (P_{100}^M - P_O^M)} \quad (24)$$

Die ursprünglich angegebene Bestimmung von α anstelle von $\tilde{\alpha}$ erfolgt aus dem Spektrum der desoxygenierten Haut G_O und dem Küvettenpektrum der desoxygenierten Hämoglobinlösung M_O .

Für $g = 0$ ergibt sich aus der Formel (24)

$$P_O^M \cdot Q_O^G - P_O^G \cdot Q_O^M = 0 \quad (25)$$

Setzt man in (26) P aus (7) und Q aus (11) ein, so erhält man

$$\alpha = \frac{(G_4^O - G_3^O) \cdot \theta_M - (M_4^O - M_3^O) \cdot \theta_G}{(G_4^O - G_2^O) \cdot \theta_M - (M_4^O - M_2^O) \cdot \theta_G} \quad (26)$$

In (26) wurden die Abkürzungen benutzt

$$\theta_M = (M_3^O - M_5^O) + \beta (M_5^O - M_1^O) \quad (27)$$

und

$$\theta_G = (G_3^O - G_5^O) + \beta (G_5^O - G_1^O) \quad (28)$$

Bei dieser Art der Bestimmung wird die Eliminationskonstante α exakt bestimmt und auf die Annäherung des Fehlerspektrums $S(\lambda)$ zwischen λ_3 und λ_5 durch eine Gerade verzichtet. Man braucht dazu allerdings zur Eichung neben dem Spektrum G^{100} das Spektrum G^O . Die Richtigkeit der errechneten Oxygenierungsgrade im Bereich niedriger Sauerstoffsättigung hängt dann wesentlich davon ab, daß das Spektrum G_O wirklich den vollständig reduzierten Zustand wiedergibt. Wir haben in dieser Arbeit mit der Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ gerechnet, die nach Formel (21) bestimmt wurde.

Mit dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers wird eine neue Auswertmethode angeboten. Diese erlaubt es, aus den Reflektionsspektren der menschlichen Haut den Oxygenierungsgrad des Kapillarblutes zu bestimmen. Das Verfahren erfüllt die gestellten Bedingungen:

1. Unabhängigkeit von der Konzentration des Hämoglobins im Meßbereich.
2. Invarianz gegen extinktionsabhängige Transformationen H, wie sie durch inhomogene Lichtwege entstehen.
3. Unabhängigkeit von dem Anteil des erfaßten reflektierten Lichtes.
4. Eliminierung von Störkomponenten durch eine In-vivo-Eichung.

2. Ausführung der Messungen bei der Anwendung an der menschlichen Haut

Einen Überblick über die gesamte Auswertung, wie sie bei den Versuchen durchgeführt wurde, gibt die Abbildung 13. Demnach werden im Versuch folgende Spektren übernommen:

- M^{100} : Küvettenspektrum der vollständig oxygenierten Hämoglobinlösung
- M^0 : Küvettenspektrum derselben vollständig desoxygenierten Hämoglobinlösung
- G^{100} : Reflexionsspektrum der Haut mit vollständig oxygeniertem Hämoglobin in den Erythrocyten der Hautkapillaren
- G : Reflexionsspektrum der Haut mit zu ermittelndem Oxygenierungsgrad des Hämoglobins in den Hautkapillaren

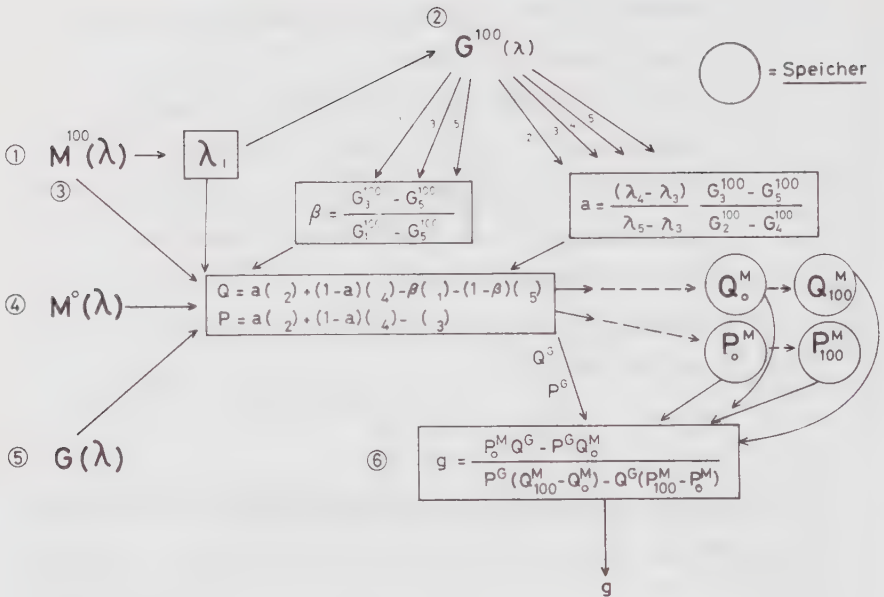


Abbildung 13

Übersicht über die Auswertung nach dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers.

$M(\lambda)$ Küvettenspektrum des Hämoglobins

$M^{100}(\lambda)$ Küvettenspektrum des HbO_2

$M^O(\lambda)$ Küvettenspektrum des desoxygenierten Hämoglobins

$G(\lambda)$ gemessenes Reflexionsspektrum der Haut

g Oxygenierungsgrad des Hämoglobins

$G^{100}(\lambda)$ gemessenes Reflexionsspektrum der Haut für

$g = 100$ % Sauerstoffsättigung

λ_i Wellenlänge, $i = 1, 2 \dots 5$

$\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \lambda_5$ sind die für das Auswertverfahren benutzten Wellenlängen

α für $\tilde{\alpha}$. Eliminationskonstante siehe Formel (21)

β Eliminationskonstante siehe Formel (16)

G_i Meßwerte der Reflexionsspektren der Haut

M_i Meßwerte der Küvettenspektren des Hämoglobins

P siehe Formel (11 b)

Q siehe Formel (11 a)

(Fortsetzung s. nächste Seite)

P_0 der Wert von P für das desoxygenierte Spektrum

P_{100} der Wert von P für das oxygenierte Spektrum

Q_0 der Wert von Q für das desoxygenierte Spektrum

Q_{100} der Wert von Q für das oxygenierte Spektrum

P^G P für Werte des Spektrums $G(\lambda)$

Q^G Q für Werte des Spektrums $G(\lambda)$

3. Betrachtung der Fehlerfortpflanzung in den einzelnen Phasen der Berechnung des Oxygenierungsgrades

Die Spektren, die zur Berechnung des Oxygenierungsgrades nach R. Wodick und D. W. Lübbers benutzt wurden, sind mit kleinen Meßfehlern behaftet. Die Fehler, die unter unseren experimentellen Bedingungen der Versuche mit der Modellhaut auftraten, sind weitgehend apparativ bedingt. Apparative Fehler sind bei der Erfassung der Wellenlängen und der Extinktionen möglich. Beide können das 5-Wellenlängenverfahren in unserer Anwendung verfälschen. Die Testuntersuchungen zu dieser Frage am Photometer ergaben, daß das Rapidphotometer nach D. W. Lübbers und W. Niesel eine so gute Reproduzierbarkeit der Wellenlängen besitzt, daß sie bei der Fehlerbetrachtung vernachlässigt werden kann. Die Fehlerdiskussion im folgenden bezieht sich auf die Extinktionsmessungen. Sie wird anhand des Schemas in Abb. 13 durchgeführt. Es zeigt, daß die In-vivo-Eichung in der Festlegung der fünf Wellenlängen und in der Berechnung der beiden Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ und β besteht; erst danach werden in der aktuellen Messung die Variablen erfaßt und daraus der Oxygenierungsgrad berechnet.

Die Auswirkung der Meßfehler wurde an der Modellhaut bei unterschiedlichen Oxygenierungsgraden experimentell geprüft. Dazu wurden als Stichproben je 100 gemittelte Spektren in etwa 1 1/2 Minuten registriert. Aus den 100 Spektren G^{100} No. 1 bis G^{100} No. 100 wurden die 100 dazugehörigen Konstantenpaare $\tilde{\alpha}_1$, β_1 bis $\tilde{\alpha}_{100}$, β_{100} berechnet.

Zur weiteren Auswertung wurden die G^{100} -Spektren und ihre Eliminationskonstanten in einer Tabelle geordnet. Eine solche Tabelle ist in Abbildung 14 dargestellt. In der obersten Zeile sind die fünf Extinktionen G_1^{100} bis G_5^{100} aus den Spektren G^{100} No. 1 bis G^{100} No. 100 eingetragen. Die daraus berechneten Eliminationskonstantenpaare $\tilde{\alpha}_1, \beta_1$ bis $\tilde{\alpha}_{100}, \beta_{100}$ werden in die beiden ersten senkrechten Spalten geschrieben. Wenn nun der Oxygenierungsgrad aus den Spektren G^{100} No. 1 bis G^{100} No. 100 mit jedem Paar Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}_1, \beta_1$ bis $\tilde{\alpha}_{100}, \beta_{100}$ berechnet wird, so entsteht eine Matrix aus 100 x 100 Oxygenierungsgraden. Innerhalb einer Zeile dieser Matrix bleiben die Eliminationskonstanten unverändert, während sich die Spektren im Rahmen der Meßgenauigkeit ändern; innerhalb einer Spalte bleibt das Spektrum unverändert, während die Eliminationskonstanten schwanken. Die Verteilung der Oxygenierungsgrade innerhalb der Zeilen gibt bei unveränderten Eliminationskonstanten Aufschluß über die Auswirkung der Meßfehler der aktuellen Messung, während die Verteilung der Oxygenierungsgrade innerhalb der Spalten Aufschluß über die systematische Auswirkung von Fehlern bei der Bestimmung der Eliminationskonstanten gibt. Diese Matrix ist Grundlage der weiteren Auswertung, die im wesentlichen in zwei Abschnitten vor sich geht.

a) Auswirkung der Meßfehler auf die Eichung (Spalte)

Aus den Oxygenierungsgraden der ersten Spalte der Matrix wird der arithmetische Mittelwert $\bar{g}_E$ (E = Eichung) und die Standardabweichung s_E bestimmt.

		No1 $G_1 G_2 G_3 G_4 G_5$	No2 $G_1 G_2 G_3 G_4 G_5$	No3
$\tilde{\alpha}_1$	β_1			
$\tilde{\alpha}_2$	β_2			
$\tilde{\alpha}_3$	β_3			
$\vdots$	$\vdots$			

Abbildung 14

Matrix für die Auswertung der Experimente mit Modellhaut.
 Die Maxtrix wird aus 100 Spektren berechnet. Am oberen horizontalen Rand bezeichnen die Meßwerte G_i aus den Hautspektren $G(\lambda)$ No. 1 - 100 die Spalten. Am linken senkrechten Rand bezeichnen die Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}, \beta$ aus den Hautspektren $G^{100}(\lambda)$ No. 1 - 100 die Zeilen. In die Matrix werden die Oxygenierungsgrade g eingetragen, die aus dem Spektrum der entsprechenden Spalte mit den Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}, \beta$ der dazugehörigen Zeile berechnet werden.

Die Oxygenierungsgrade dieser Spalte werden weiter mit den entsprechenden Werten β paarweise geordnet. Aus diesen Wertepaaren wird eine Regressionsgerade $g_E = a + b \cdot \beta$ berechnet und mittels des Korrelationskoeffizienten r geprüft. Für diese Betrachtung der Oxygenierungsgrade aus volloxygenierter Haut kann $\tilde{\alpha}$ vernachlässigt werden, da es sich nach R. Wodick und D. W. Lübbers in der Berechnung aus den volloxygenierten Hautspektren praktisch nicht auswirkt.

Wenn sich ein linearer Zusammenhang $g_E = a + b \cdot \beta$ beweisen läßt, gilt die Standardabweichung s_E aus der ersten Spalte für alle weiteren Spalten.

b) Auswirkung der Meßfehler aus den Messungen (Zeile)

Für diese Betrachtung wird die Zeile der Oxygenierungsgrade ausgewählt, die mit einem mittleren Paar Eliminationskonstanten berechnet wurde. Um ein mittleres Paar Eliminationskonstanten zu finden, werden $\tilde{\alpha}$ und β in einem Kreuzdiagramm aufgetragen. Aus der zweidimensionalen Verteilung wird mit dem Auge ein mittleres Paar Eliminationskonstanten ausgewählt. Die Zeile dieses Eliminationskonstantenpaares wird in der Matrix aufgesucht. Aus der Verteilung der Oxygenierungsgrade in dieser Zeile wird der arithmetische Mittelwert $\bar{g}$ und die Standardabweichung s berechnet.

Die Auswertung der gesamten Matrix kann nunmehr wie folgt zusammengefaßt werden:

Bei einem mittleren Paar Eliminationskonstanten zeigt die Verteilung der Oxygenierungsgrade aus der volloxygenierten Haut den mittleren Oxygenierungsgrad $\bar{g}$ mit den Vertrauensgrenzen $\bar{g} \pm s$.

Je nachdem, wie die Eichung im Einzelfall ausfällt, kann diese ganze Verteilung zu höheren oder niedrigeren Oxygenierungsgraden verschoben sein. Die Vertrauensgrenze für eine solche Verschiebung ist gekennzeichnet durch die Standardabweichung $\pm s_E$.

Die weiteren Stichproben von der Modellhaut mit sinkendem Oxygenierungsgrad werden im gleichen Sinn ausgewertet. Auch hier können Oxygenierungsgrade in einer Matrix angeordnet werden, deren Zeilen durch die Spektren und deren Spalten durch die Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β aus den Spektren G^{100} bezeichnet sind. Für die Auswertung der Oxygenierungsgrade in Zeilenrichtung muß allerdings berücksichtigt werden, daß sich innerhalb dieser Stichprobe der Oxygenierungsgrad systematisch mit der Zeit ändern kann. Hier muß anstelle des Mittelwertes mit der Standardabweichung eine Regressionsgerade mit der Streuung um die Regressionsgerade berechnet werden.

Im übrigen sind Vorgehen bei der Auswertung und Interpretation unverändert.

4. Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung liegen Oxygenierungsgrade q_E und q vor, die auf unterschiedliche Weise aus den Stichproben errechnet wurden. Von diesen Oxygenierungsgraden wurden Häufigkeitsverteilungen angefertigt und der arithmetische Mittelwert $\bar{q}_E$, $\bar{q}$ und die Standardabweichungen s_E bzw. s nach den folgenden Formeln bestimmt:

$$\bar{q} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^p q_i$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^p (q_i - \bar{q})^2}$$

Dabei ist n die Anzahl der Oxygenierungsgrade q aus den Stichproben.

Für den Fall, daß eine systematisch Veränderung der Spektren im Sinne einer Veränderung des Oxygenierungsgrades über die Zeit t vermutet werden könnte, wurde eine lineare Regressionsanalyse mit Berechnung des Regressionskoeffizienten $b_{q \cdot t}$, des Korrelationskoeffizienten r und der Streuung um die Regressionsgerade $s_{q \cdot t}$ angewendet. Die Formeln dafür lauten:

$$q = a + b \cdot t$$

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^p t_i q_i - (\sum_{i=1}^p t_i) \cdot (\sum_{i=1}^p q_i)}{\sqrt{(n \sum_{i=1}^p t_i^2 - (\sum_{i=1}^p t_i)^2) (n \sum_{i=1}^p q_i^2 - (\sum_{i=1}^p q_i)^2)}}$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^p t_i q_i - (\sum_{i=1}^p t_i) (\sum_{i=1}^p q_i)}{n \sum_{i=1}^p t_i^2 - (\sum_{i=1}^p t_i)^2}$$

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n g_i - b \sum_{i=1}^n t_i}{n}$$

$$s_{g \cdot t} = \frac{1}{n} \sqrt{ \sum_{i=1}^n g_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n g_i \right)^2 - \frac{ \left(\sum_{i=1}^n t_i - \sum_{i=1}^n t_i \sum_{i=1}^n g_i \right)^2 }{ \sum_{i=1}^n t_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n t_i \right)^2 } }$$

IV EXPERIMENTE

1. Wellenlängengenauigkeit des Rapidphotometers

Für die Auswertung nach dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers ist die Wahl der Wellenlängen nicht kritisch. Es müssen aber die einmal festgelegten Wellenlängen bei jeder folgenden Messung exakt eingehalten werden. Es wird daher zunächst untersucht, wie weit dies bei dem benutzten Photometer erreicht wird.

Dazu wurde getestet, inwieweit der Streubereich $\Delta\lambda$ des Photometers bei gegebenen Eigenschaften des Gitters und gegebener Breite der Spalte an verschiedenen Auslenkungspositionen des großen Schwingspiegels aus seiner Mittellage unterschiedlich ist. Der Test wurde bei den Wellenlängen durchgeführt, die in der Auswertung nach dem 5-Wellenlängenverfahren verwendet werden. Das zuvor erwähnte Holmiumoxidfilter bietet mit seinem Extinktionsmaximum bei λ_F (F für Filter) = 445 nm gute Eigenschaften für solche Untersuchungen. Durch Drehung des Gitters kann λ_F auf jede Auslenkungsposition des großen Schwingspiegels entsprechend der zu untersuchenden Wellenlänge λ_1 gebracht und eine beliebige Anzahl Spektren pro Stellung des Gitters als Stichprobe registriert werden.

Versuchsbeschreibung

An einer Küvette mit gelöstem, vollständig oxygeniertem Hämoglobin wurde der Wellenlängenbereich am Photometer wie beschrieben

ben eingestellt. Auf dem Oszillographenschirm wurden die Abszissenwerte der Wellenlängen $\lambda_i = \lambda_1 - \lambda_5$ bestimmt und notiert. Anschließend wurde die Küvette aus dem Meßstrahlengang genommen und an deren Stelle das Holmiumoxidfilter gebracht. Bei unveränderter Amplitude des 50-Hz-Schwingspiegels wurde der Gittermonochromator so gedreht, daß das Extinktionsmaximum des Filters bei λ_F denselben Abszissenwert hatte wie λ_1 . Dann wurden 500 gemittelte Spektren auf Magnetband gespeichert. Auf dieselbe Weise wurde durch Drehung des Gitters die Wellenlänge λ_F nacheinander auf die Abszissenwerte von $\lambda_2 - \lambda_5$ gebracht und wieder jeweils 500 gemittelte Spektren auf dem Magnetband gespeichert. Die Spektren wurden mit Hilfe des Prozessrechners DDP 516 der Firma Honeywell ausgewertet.

Danach wurde das optische Filter aus dem Meßstrahlengang entfernt, die Küvette mit der volloxygenierten Hämoglobininlösung wieder angebracht und das Gitter in die Ausgangsstellung zurückgedreht. Jetzt wurden 100 gemittelte Hämoglobinspektren auf Band geschrieben.

Auswertung

Aus jedem der 500 Filterspektren wurde die Wellenlänge des Extinktionsmaximums bei λ_F herausgesucht und in einer Häufigkeitsverteilung aufgetragen.

Aus jedem der 100 Hämoglobinspektren wurden die fünf Wellenlängen λ_i herausgesucht. Wie oben beschrieben, war dabei λ_2 die Wellenlänge des ersten Extinktionsmaximums bei etwa 542 nm, λ_4 die Wellenlänge des zweiten Extinktionsmaximums bei etwa 578 nm und λ_3 die Wellenlänge des zwischen den beiden Maxima

liegenden Extinktionsminimums bei etwa 558 nm. λ_1 und λ_5 waren die korrespondierenden Wellenlängen, die dieselben Extinktionswerte zeigten, wie bei λ_3 .

Außerdem wurden die fünf Wellenlängen nach einer weiteren Methode bestimmt. Dabei wurden die Extinktionswerte um die beiden Maxima und um das dazwischenliegende Minimum nach der Gaußschen Methode der kleinsten Quadrate angenähert. Zur Approximierung wurden Parabeln verwendet. Aus den Parabeln wurden die Extremwerte dadurch bestimmt, daß man die Stellen suchte, an denen die erste Ableitung den Wert 0 annimmt. Die beiden Wellenlängen λ_1 und λ_5 wurden so bestimmt, wie es im vorangehenden Absatz beschrieben ist. Auch die Wellenlängen λ_1 aus den HbO_2 -Spektren wurden in Häufigkeitsverteilungen aufgetragen.

Resultate

Die Wellenlängenstreuung des Photometers für das Holmiumoxidfilter ergibt sich aus Abbildung 15. Man sieht, daß die Streuung gering und im mittleren Bereich der nichtlinearen Wellenlängenskala am kleinsten ist. Das Ergebnis ist in Tabelle 1 dargestellt, wo die doppelte Standardabweichung (2s) sowohl in der nichtlinearen Wellenlängenskala des Photometers als auch nach Umrechnung in nm angegeben ist.

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse aus acht gleichartigen, zeitlich weit auseinanderliegenden Versuchen dargestellt.

Bei diesen Versuchen beträgt der größte 2s-Bereich ± 0.29 nm. Daraus folgt, daß das Rapidphotometer T 13/3 nach D. W. Lübbers

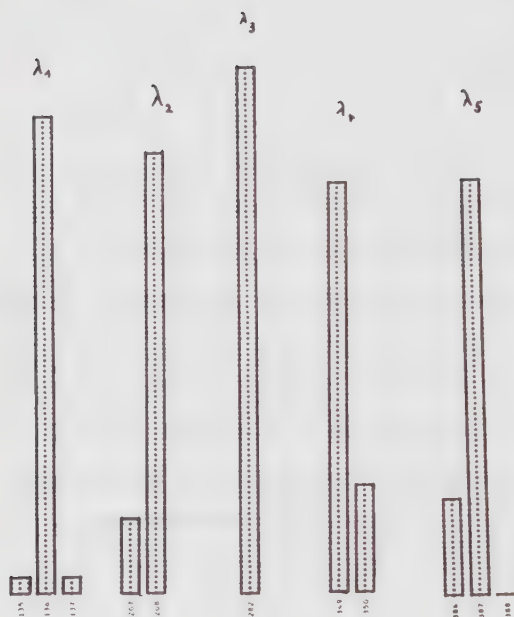


Abbildung 15

Wellenlängenstreuung des Rapspektroskops T 13/3 nach
D. W. Lübbers und W. Niesel.

Auf der Abszisse sind die Δn -Werte des nichtlinearen Wellen-
längenmaßstabes aufgetragen. Auf der Ordinate ist die Häufig-
keit der gemessenen Wellenlänge entsprechend λ_i aufgetragen.
Jede Verteilung λ_i repräsentiert 500 Messungen.

Tabelle 1

	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
2-s-Bereich mit Δn	0,58	0,74	0	0,82	0,82
$\Delta n / \text{nm}$	4,2	3,3	0	3,9	4,8
2-s-Bereich in nm	0,14	0,22	0	0,21	0,17

Wellenlängenstreuung des Rapiidspektroskops T 13/3 nach
D. W. Lübbers und W. Niesel

Tabelle No. 2

Datum		λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
20.11.73	2s-Bereich in Δn	± 1.3	± 0.7	± 1.0	± 1.0	± 3.4
	$\Delta n/nm$	8.3	4.3	4.1	5.8	18.5
	2s-Bereich in Δn	± 0.15	± 0.17	± 0.24	± 0.18	± 0.18
23.11.73	2s-Bereich in Δn	± 2.1	± 0.7	± 1.0	± 1.0	± 2.1
	$\Delta n/nm$	9.3	4.3	4.1	6.2	16.0
	2s-Bereich in Δn	± 0.22	± 0.17	± 0.24	± 0.15	± 0.13
28.11.73	2s-Bereich in Δn	± 1.0	± 0.8	± 0.1	± 1.0	± 1.0
	$\Delta n/nm$	4.0	3.3	3.2	3.8	4.5
	2s-Bereich in Δn	± 0.26	± 0.24	± 0.03	± 0.26	± 0.23
29.11.73	2s-Bereich in Δn	± 1.0	± 0.8	± 0.1	± 1.0	± 1.0
	$\Delta n/nm$	4.0	3.3	3.2	3.8	4.5
	2s-Bereich in Δn	± 0.26	± 0.24	± 0.03	± 0.26	± 0.23
11.12.73	2s-Bereich in Δn	± 1.0	± 1.0	± 0.6	± 0.3	± 1.3
	$\Delta n/nm$	4.6	3.4	3.3	4.1	5.9
	2s-Bereich in Δn	± 0.22	± 0.29	± 0.17	± 0.08	± 0.22
1.3.74	2s-Bereich in Δn	± 0.8	± 0.5	± 0.1	± 1.0	± 0.8
	$\Delta n/nm$	4.1	3.3	3.2	4.0	5.0
	2s-Bereich in Δn	± 0.19	± 0.15	± 0.03	± 0.26	± 0.17
5.3.74	2s-Bereich in Δn	± 0.8	± 0.0	± 0.2	± 0.0	± 0.1
	$\Delta n/nm$	4.0	3.3	3.2	4.0	3.8
	2s-Bereich in Δn	± 0.19	± 0.0	± 0.08	± 0.0	± 0.02
7.3.74	2s-Bereich in Δn	± 0.8	± 0.1	± 0.1	± 0.8	± 1.3
	$\Delta n/nm$	4.0	3.2	3.3	4.2	5.9
	2s-Bereich in Δn	± 0.2	± 0.04	± 0.02	± 0.19	± 0.22

und W. Niesel unter unseren Meßbedingungen eine ausreichend gute Reproduzierbarkeit der Wellenlängen zeigt. Für die folgenden Auswertungen nach dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers sind daher Meßfehler aufgrund von Wellenlängenungenauigkeiten zu vernachlässigen.

Genauigkeit bei der Bestimmung der fünf Wellenlängen am Hämoglobinküvettenpektrum unter Benutzung der Extremwerte

Werden die Extremwerte am Hämoglobinküvettenpektrum direkt (siehe oben) bestimmt, so ergibt sich ein Streubereich der Wellenlängen (Abbildung 16), der größer ist als beim Filter (Abbildung 15). Die größere Wellenlängenstreuung beim Hämoglobin ist durch die Extinktionsschwankungen bedingt.

Verbessert man die Bestimmung der Extremwerte durch Approximation mit einer Parabel, so wird die Streubreite der Wellenlängen kleiner (Abbildung 17). Bei den weiteren Untersuchungen werden die Wellenlängen der Extremwerte mit Hilfe der Parabeln approximativ bestimmt.

2. Empirische Bestimmung des Grundspektrums an Leichenhaut

In einer eigenen Untersuchung wurde das optische Verhalten der Epidermis und der Papillarschicht ohne den Einfluß des Hämoglobins orientierend beschrieben.

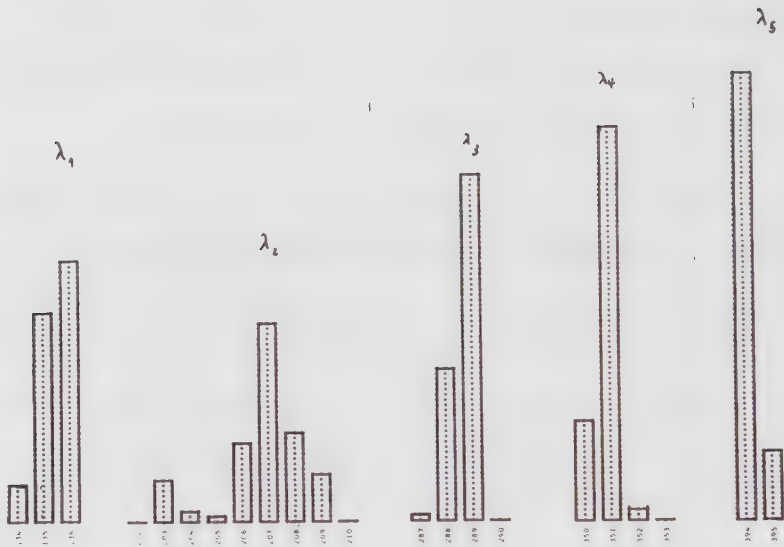


Abbildung 16

Wellenlängengenaugigkeit bei der Bestimmung der Wellenlängen λ_i am HbO₂-Küvettenpektrum durch Suche der Extremwerte aus 100 fortlaufend registrierten Spektren. Auftragung wie Abb. 15.

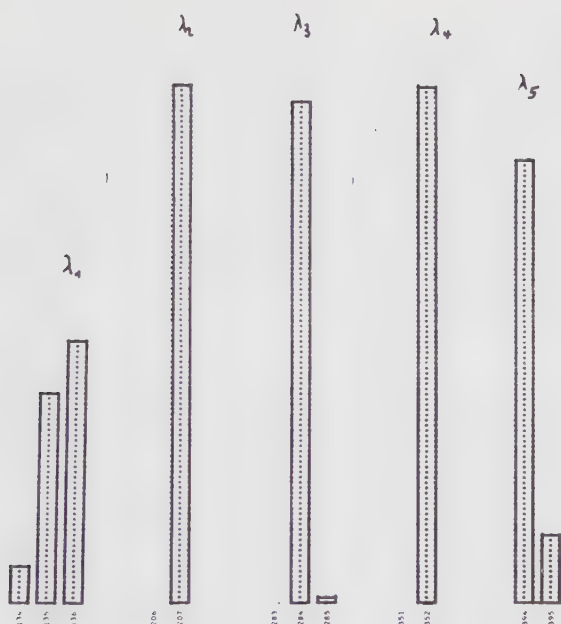


Abbildung 17

Wellenlängengenauigkeit bei der Bestimmung der Wellenlängen λ_i am HbO_2 -Küvettenpektrum über Parabel-Approximierung aus 100 fortlaufend registrierten Spektren. Auftragung wie in Abbildung 15.

Versuchsbeschreibung

Zu diesem Zweck wurde aus der Bauchhaut eines frisch verstorbenen Menschen ein etwa 1 x 1 cm großes Stück mit anhängendem subkutanen Fettgewebe entnommen. Die Haut in dieser Körperregion war glatt, nicht behaart, pigmentarm und blaß, d. h. weitgehend blutleer. An den abhängigen Körperpartien begannen sich eben Totenflecke zu bilden.

Nach sorgfältiger Entfernung des subkutanen Fettgewebes wurde ein etwa 5 mm breiter Streifen der verbleibenden Haut abgeschnitten und mit der Hautoberfläche nach oben auf den Schneidetisch eines Gefrieremikrotoms gelegt. Vor dem Einfrieren auf -20°C wurde die Oberfläche so ausgestrichen, daß sie parallel zur Schnittebene ausgerichtet war. Nach dem Einfrieren wurde eine oberflächliche Schicht von etwa $50\text{ }\mu\text{m}$ Dicke tangential abgetrennt. Auf die gleiche Weise wurde ein weiteres Hautstück präpariert und mit der Rasierklinge eine etwa 0,5 mm dicke Schicht gewonnen.

Ergebnis

Die Spektren dieser Hautschichten sind in Abbildung 18 zu sehen. Die Aufnahmen wurden mit dem beschriebenen Rapiidspektroskop nach D. W. Lübbers und W. Niesel gemacht.

Die Abbildung 18 entspricht etwa der vorhergehenden Abbildung 5, die jedoch als Transmissionskurve im durchfallenden Licht geschrieben ist. Das Extinktionsspektrum der bei $50\text{ }\mu\text{m}$ Schichtdicke erfaßten Epidermis zeigt von 500 nm nach 600 nm

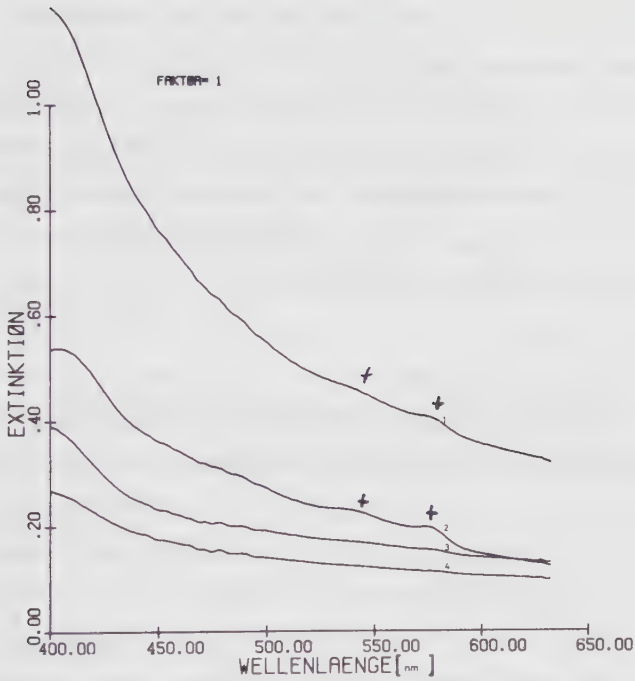


Abbildung 18

Grundspektren von Leichenhaut

1. Epidermis und Papillarschicht 0,5 mm dick. Reflexionsspektrum,
2. wie 1., durchfallendes Licht,
3. Hornschicht 50, μ m dick. Reflexionsspektrum,
4. Hornschicht wie 3., durchfallendes Licht.

+ : Hämoglobinrest in der Haut

einen abfallenden, gering gebogenen Verlauf der Extinktion. Dieses Spektrum kann als Korrelat zum Fehlerspektrum $S(\lambda)$ betrachtet werden. Bei 0,5 mm Schichtdicke, in der die Papillarschicht mit erfaßt wird, ergibt sich bei etwas größerer Extinktion prinzipiell derselbe Verlauf. Ein geringes Hämoglobinsignal (+) ist überlagert. Das Hämoglobinsignal stammt von einem Blutrest in den Papillarkapillaren.

3. Prüfung der Brauchbarkeit von Modellhaut für die Testung des 5-Wellenlängenverfahrens nach R. Wodick und D. W. Lübbers

Im folgenden wird untersucht, ob die Leichenhaut ein brauchbares Modell für oxymetrische Untersuchungen ist. Als besonders geeignet erschien uns der Bereich der Totenflecken wegen der Blutfülle in den Kapillaren, die der Hyperämie einer lebenden Haut entspricht.

Versuchsbeschreibung

Die etwa 20 x 30 mm großen Hautstücke wurden ungefähr 10 Stunden post mortem entnommen. Zu diesem Zeitpunkt hatten sich Totenflecken gebildet, die im Bereich der Entnahmestelle schon konfluiert, aber noch leicht wegdrückbar waren. Das subkutane Fettgewebe wurde bis auf eine etwa 2 mm dicke Schicht abpräpariert und das Präparat im Kühlschrank bei etwa 8 °C mit angefeuchtetem, reinem Sauerstoff überblasen. Dabei färbten sich die ursprünglich bläulichen Totenflecken hellrot.

Die Haut verblieb ungefähr 10 Stunden unter diesen Bedingungen

im Kühlschrank. Dann wurde sie in normaler Luftatmosphäre bei Zimmertemperatur mit der Oberfläche unter den Lichtleiter eines Rapiidspektroskops gebracht. Sie lag dabei mit ihrer Unterseite auf einem dünnwandigen Glasgefäß, das zur Erwärmung mit Wasser bei 37 °C durchspült wurde. In einem kleinen Hautschnitt wurde ein Thermoelement zur überflächennahen Temperaturmessung untergebracht. Nach Übernahme der ersten hundert gemittelten Spektren wurde die Haut zur Beschleunigung der Desoxygenierung mit Stickstoff überblasen. Die Beobachtung des Hautreflexionspektrums erfolgte während des ganzen Versuchs kontinuierlich auf dem Schirm eines Oszillographen. Serien von 100 gemittelten Spektren wurden in bestimmten Zeitabständen auf Magnetband gespeichert.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 19, 20, 21 und 22 dargestellt.

Zu Beginn zeigte das Reflexionsspektrum G I im Meßbereich zwischen 500 und 600 nm Wellenlänge deutlich die Form des oxygenierten Hämoglobins (siehe Abbildung 19 und 20). Um das desoxygenierte Spektrum zu erhalten, wurde die Haut erwärmt und mit Stickstoff überblasen. Nach 26 Minuten war auf der Hautoberfläche die Temperatur von 32 °C erreicht.

Nach 71 Minuten zeigte das Reflexionsspektrum die typische Form des desoxygenierten Hämoglobins (Abbildung 21 und 22) und veränderte sich in der restlichen Versuchszeit für das Auge erkennbar nicht mehr.

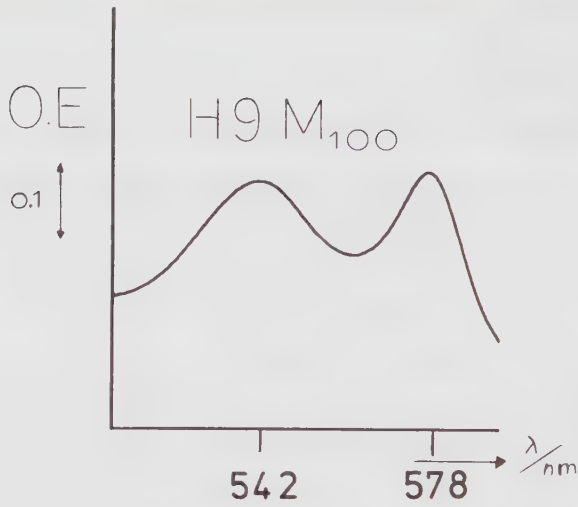


Abbildung 19
Küvettenpektrum $M_{100}(\lambda)$ von HbO_2 -Lösung

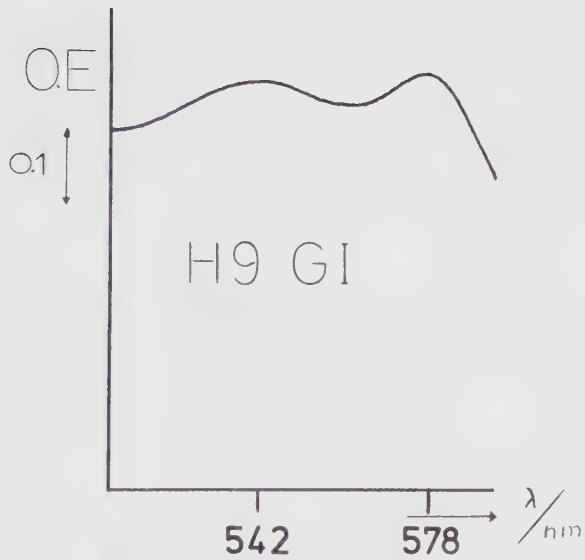


Abbildung 20

Volloxygeniertes Hautspektrum $G_{100}(\lambda)$

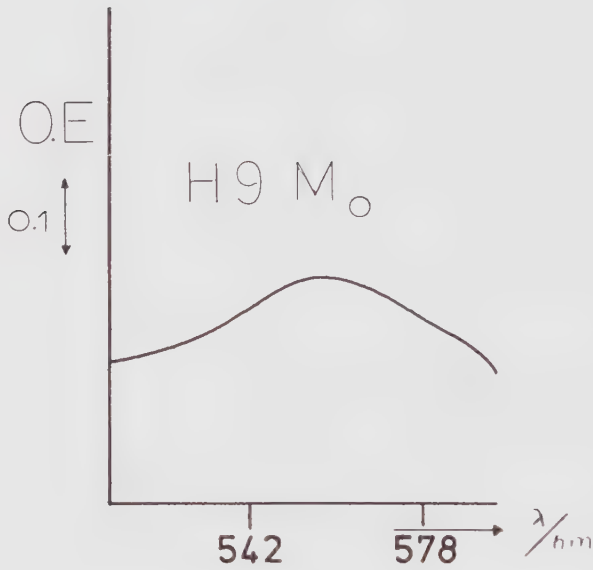


Abbildung 21

Küvettenpektrum $M_0(\lambda)$ von desoxygenierter Hb-Lösung

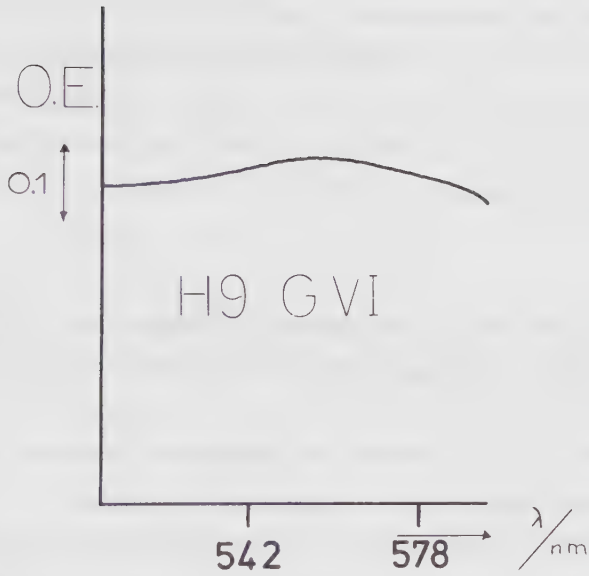


Abbildung 22
Desoxygeniertes Hautspektrum $G_O(\lambda)$

Wie diese Ergebnisse zeigen, kann man durch die Haut hindurch Hämoglobin mit Sauerstoff aufsättigen. Das optische Signal zeigt deutlich die Form des oxygenierten Hämoglobins. Man kann durch Erwärmung der Haut eine Desoxygenierung herbeiführen, wobei das optische Signal deutlich die Form des desoxygenierten Hämoglobins zeigt.

4. Testung des 5-Wellenlängenverfahrens nach R. Wodick und D. W. Lübbers an Hautmodellen verschiedener Individuen

Nachdem in Leichenhaut mit Totenflecken ein praktikables Modell gefunden wurde, soll an vier unterschiedlichen Häuten das 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers geprüft werden. Alle Versuche wurden in der Weise durchgeführt, wie sie für den Versuch im vorangehenden Kapitel beschrieben ist, jedoch wurde auf die Messung der Temperatur verzichtet.

Die Spektren wurden wieder in Blöcken zu je 100 mit durchlaufender Nummerierung übernommen. Sie wurden wie folgt hintereinander aufgezeichnet:

M_{100}	Küvette mit klarer Lösung von vollständig oxygeniertem Hämoglobin.
M_0	Küvette mit klarer Lösung von vollständig desoxygeniertem Hämoglobin.

Die Küvettenpektren wurden im durchfallenden Licht gemessen. Die Desoxygenierung wurde, wie bereits beschrieben, durch

Zugabe von Natriumdithionit herbeigeführt. Dabei blieb die Küvette in unveränderter Stellung am Photometer. Die folgenden Spektren von der Modellhaut wurden im reflektierten Licht mit Lichtleiter gemessen.

G I = G₁₀₀ Modellhaut mit vollständig oxygeniertem Hämoglobin in den Kapillaren.

G II, III ... Modellhaut mit abnehmender Oxygenierung des Hämoglobins in den Kapillaren bei unveränderter Position am Photometer. Der letzte Block Spektren in dieser Reihe stammt immer von Modellhaut mit desoxygeniertem Hämoglobin in den Kapillaren.

Auf diese Weise wurden von vier Modellhäuten mit der Bezeichnung H 8, H 9, H 11 und H 12 die entsprechenden Blöcke von Spektren übernommen.

Resultate

Die Auswertung ist in Kapitel III, 3 und 4 beschrieben. Dabei werden als erstes die Eliminationskonstanten α und β berechnet. Bei den Modellhäuten H 11 und H 12 (Abbildung 25, 26) sieht man jeweils eine eng zusammenliegende, haufenförmige Punktwolke im rechten oberen Quadranten. Abweichend davon scharen sich die Punkte aus Modellhaut H 8 (Abbildung 23) um eine Gerade mit einer maximalen Anhäufung im mittleren Teil. α und β sind bis auf eine Ausnahme negativ. Für die Modellhaut H 9

ergeben sich drei Kollektive (Abbildung 24), für die jeweils $\tilde{\alpha}$ fast konstant ist, während β deutlich unterschiedliche Werte annimmt.

Werden mit unterschiedlichen Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β aus den Verteilungen Oxygenierungsgrade an einem Hautspektrum G_{100} berechnet, so fallen diese unterschiedlich aus. In allen vier Versuchen mit Modellhaut läßt sich zwischen den Oxygenierungsgraden g_E und den dazugehörigen Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ eine Regressionsgerade $g_E = a + b \cdot \beta$ bestimmen. Die Korrelationskoeffizienten waren mit $|-0,84| = |r| = |0,96|$ hochsignifikant. Entsprechend kann man mit den Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ und den Oxygenierungsgraden aus einem Hautspektrum verfahren. Auch hier zeigt sich ein linearer Zusammenhang. Die Standardabweichung s_E in der ersten Zeile einer Matrix darf daher als Vertrauensgrenze für die In-vivo-Eichung gelten. Sie ist bei den weiteren Ergebnissen mit angegeben.

Wird mit den mittleren $\tilde{\alpha}$ und β die Oxygenierung kontinuierlich über ca. 90 Sekunden berechnet, so erhält man bei einer Oxygenierung von $g = 100\%$ Sauerstoffsättigung (Abbildung 27, 28, 29 und 30) und $g = 0\%$ Sauerstoffsättigung (Abbildung 31, 32, 33 und 34) eine abszissenparallele Gerade. Die einzelnen Modellhäute zeigen eine unterschiedliche Streuung; sie ist bei H 9 besonders groß. Bei mittleren Oxygenierungsgraden (Abbildung 35, 36, 37 und 38) erhält man eine abfallende Gerade, die durch die Hautatmung bedingt ist. (Hier muß zur Beurteilung der Streuung eine Regressionsanalyse angewendet werden.)

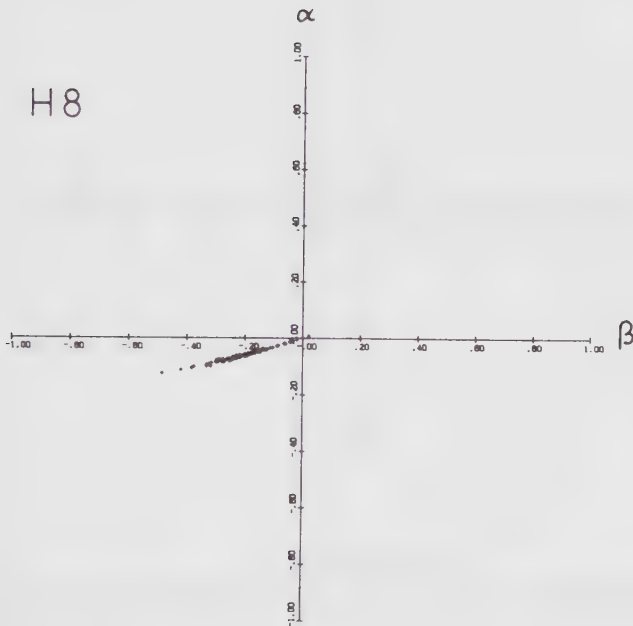


Abbildung 23

Zweidimensionale Verteilung der Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β
aus 100 Aufnahmen des Spektrums der volloxygenierten Modell-
haut H 8

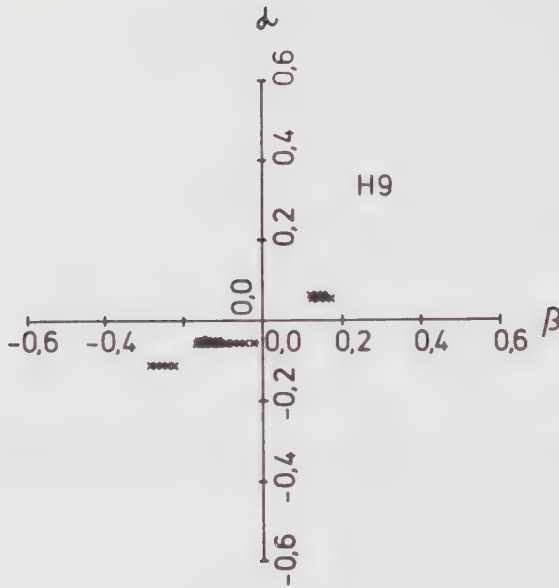


Abbildung 24

Zweidimensionale Verteilung der Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β
aus 100 Aufnahmen des Spektrums der volloxygenierten Modell-
haut H 9

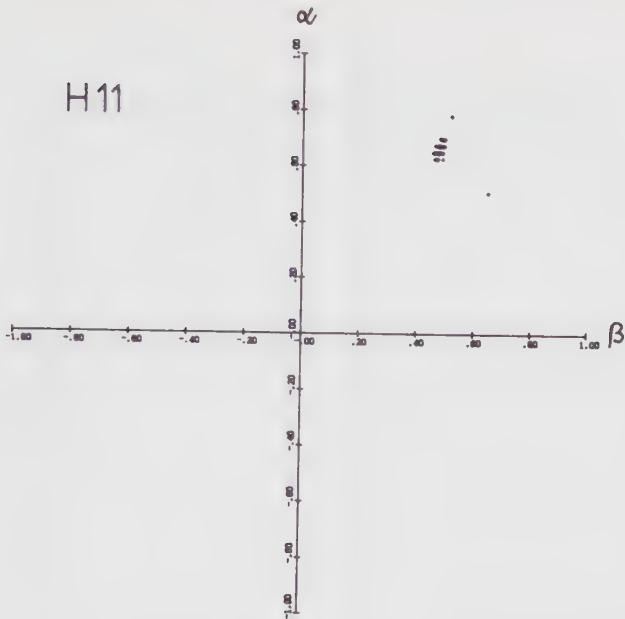


Abbildung 25

Zweidimensionale Verteilung der Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β aus 100 Aufnahmen des Spektrums der volloxygenierten Modellhaut H 11

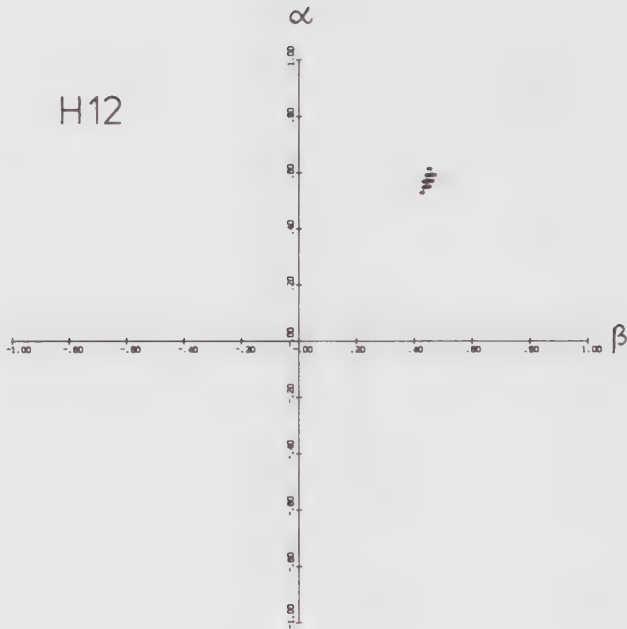


Abbildung 26

Zweidimensionale Verteilung der Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$, β
aus 100 Aufnahmen des Spektrums der volloxygenierten Modell-
haut H 12

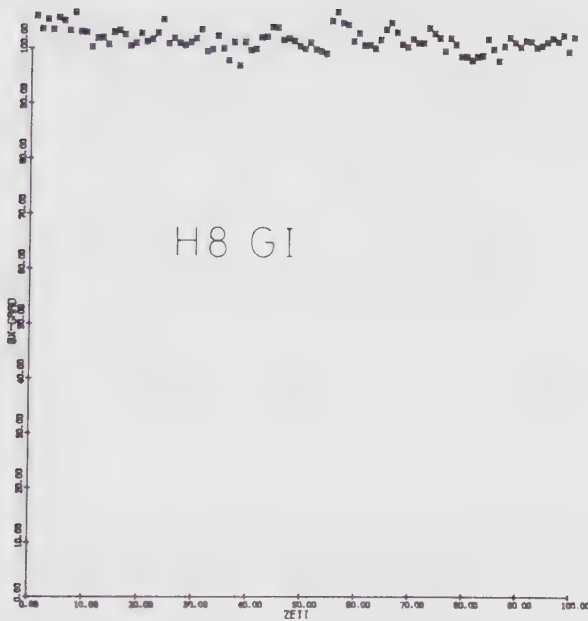


Abbildung 27

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 8 G¹⁰⁰. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

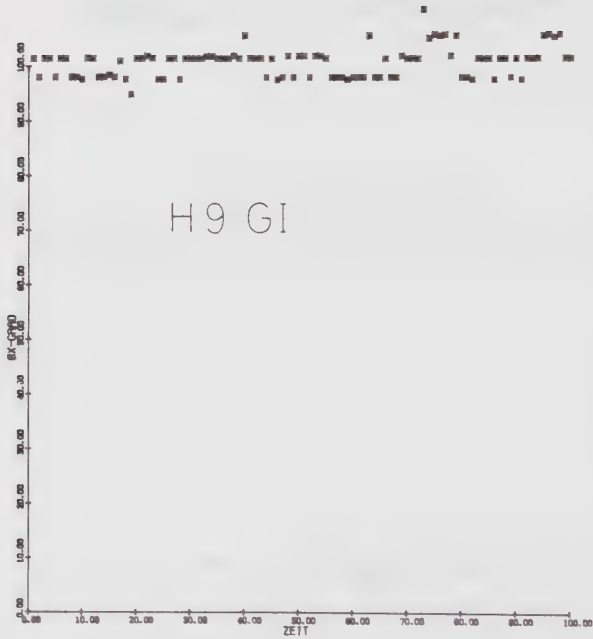


Abbildung 28

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 9 G¹⁰⁰. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

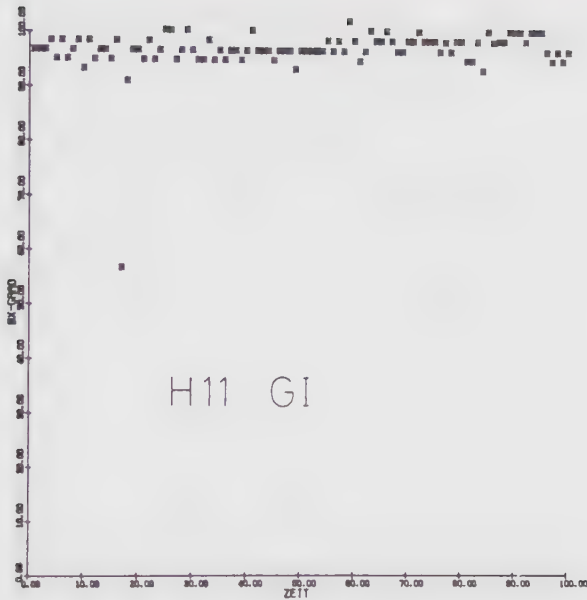


Abbildung 29

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 11 G^{100} . Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

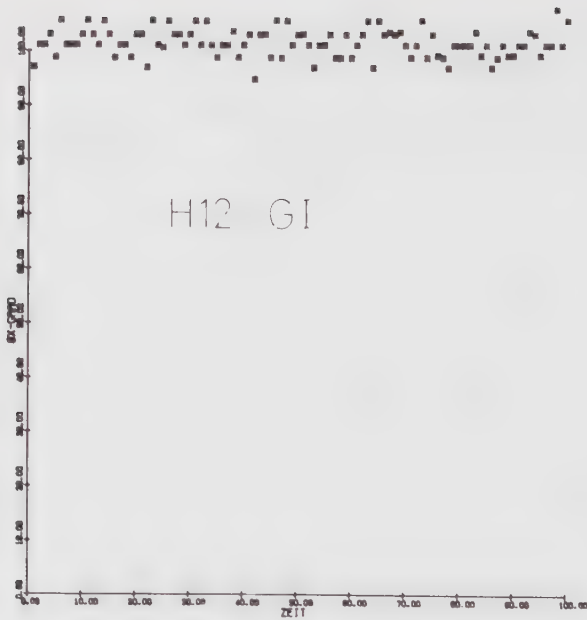


Abbildung 30

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 12 G¹⁰⁰. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

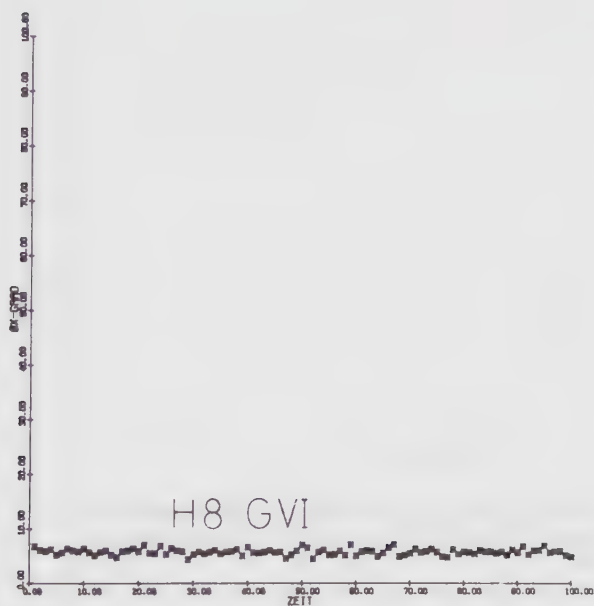


Abbildung 31

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 8 G^O. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

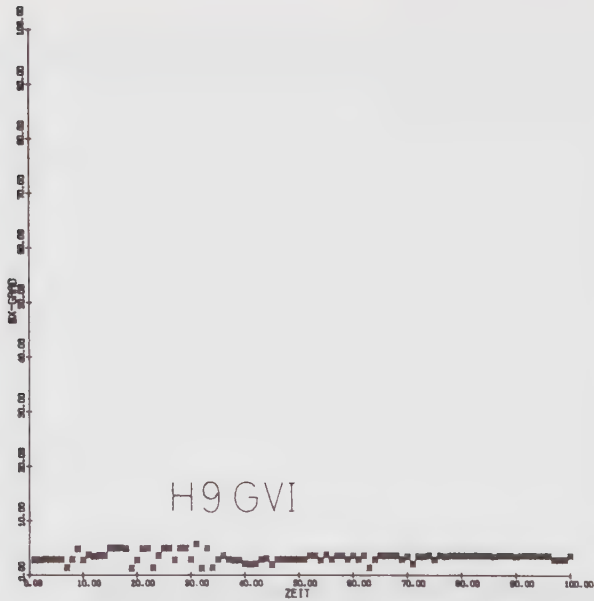


Abbildung 32

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 9 G⁰. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

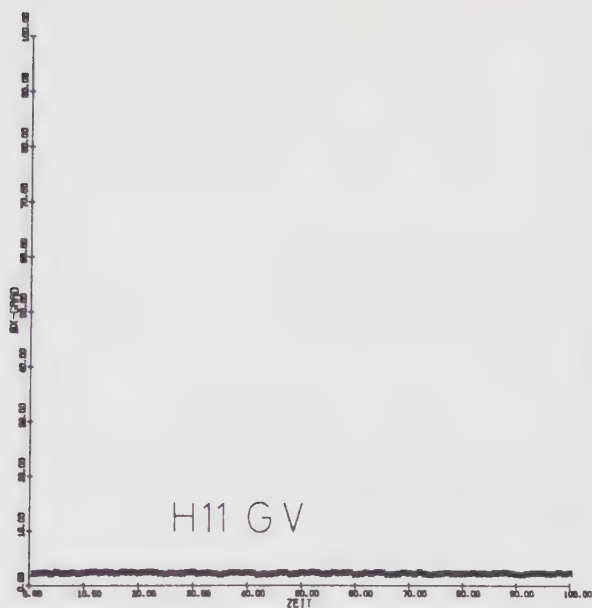


Abbildung 33

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 11 G^0 . Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.



Abbildung 34

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 12 G° . Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

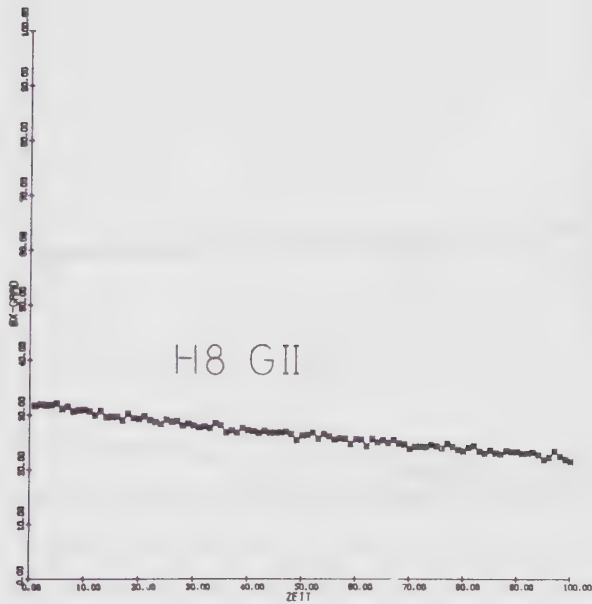


Abbildung 35

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 8 G II. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

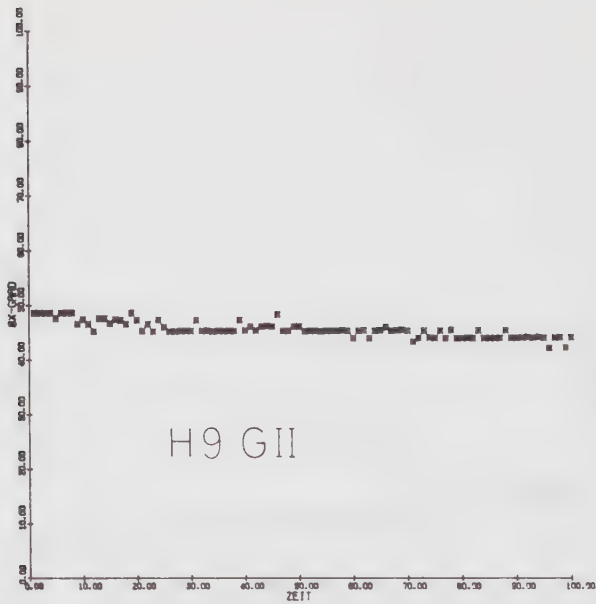


Abbildung 36

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 9 G II. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

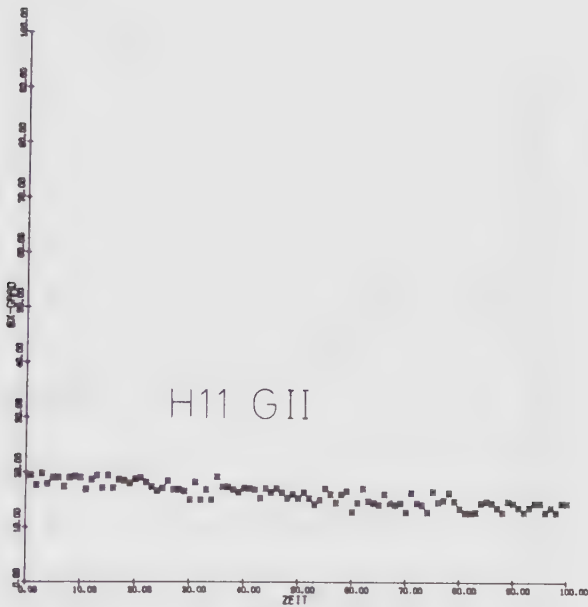


Abbildung 37

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 11 G II. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

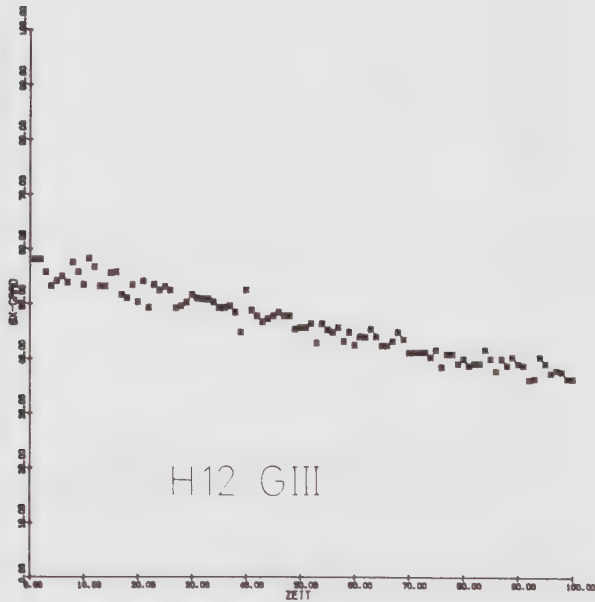


Abbildung 38

Oxygenierungsgrade g aus 100 Aufnahmen des Spektrums der Modellhaut H 12 G III. Darstellung in der zeitlichen Reihenfolge der Aufnahme der Spektren.

In den Tabellen 3 - 6 sind die Ergebnisse der statistischen Berechnungen aus den Versuchen H 8, H 9, H 11 und H 12 dargestellt. In der ersten Rubrik stehen die rückgerechneten Oxygenierungsgrade der Küvettenspektren M^{100} des volloxygenierten Hämoglobins. Bei diesen Spektren liegen vergleichsweise einfache optische Verhältnisse vor. Hier ist eine geringe Streuung zu erwarten.

Bei mittleren Eliminationskonstanten ist der mittlere Oxygenierungsgrad aus H 9 M^{100} $\bar{g} = 100\%$ Sauerstoffsättigung, die Standardabweichung beträgt $s = \pm 1,24\%$ Sauerstoffsättigung (s. Kap. III, 3b). Der durch β bewirkte, mögliche systematische Fehler ist mit der Standardabweichung $s_E = \pm 1,21\%$ Sauerstoffsättigung zu beschreiben (s. Kap. III, 3a). Der mittlere Oxygenierungsgrad aus H 9 M^{100} ist $\bar{g} = 100,1\%$ Sauerstoffsättigung; die Standardabweichung beträgt $s = \pm 0,62\%$ Sauerstoffsättigung. Die Standardabweichung des systematischen Fehlers nimmt den Wert $s_E = \pm 0,56\%$ Sauerstoffsättigung an. Der mittlere Oxygenierungsgrad aus H 11 M^{100} ist $\bar{g} = 98,9\%$ Sauerstoffsättigung; die Standardabweichung ist $s = \pm 0,7\%$ Sauerstoffsättigung, die Standardabweichung des systematischen Fehlers beträgt $s_E = \pm 0,65\%$ Sauerstoffsättigung. Aus H 12 M^{100} zeigt sich ein mittlerer Oxygenierungsgrad $\bar{g} = 100\%$ Sauerstoffsättigung mit einer Standardabweichung $s = \pm 0,91\%$ Sauerstoffsättigung; hier ist die Standardabweichung des systematischen Fehlers mit $s_E = \pm 0,9\%$ Sauerstoffsättigung berechnet.

Bei den volloxygenierten Modellhäuten (GI) sind die mittleren Oxygenierungsgrade und die Standardabweichungen

Tabelle No. 3

V E R S U C H M O D E L L H A U T N o . H 8					
Spektren	M_{100} $n = 100$	G I $n = 100$	G II $n = 100$	G VI $n = 100$	
$\bar{g}$ (α, β konstant) % Ox.-Grad	100,0	102,2	-	5,8	
s (α, β konstant) % Ox.-Grad	$+ \underline{\quad} 1,24$	$+ \underline{\quad} 1,85$	-	$+ \underline{\quad} 0,58$	
s_E (α, β variabel) % Ox.-Grad	$+ \underline{\quad} 1,21$	$+ \underline{\quad} 2,27$	$+ \underline{\quad} 0,21$	$+ \underline{\quad} 0,22$	
s_{gt} (α, β konstant) % Ox.-Grad	-	-	$+ \underline{\quad} 0,49$	-	
Regressionsgerade $g = a + bt$	-	-	$g = 31,31 - 0,09 t$	-	
r	-	-	$- 0,9834$	-	

Tabelle No. 4

V E R S U C H M O D E L L H A U T N o . H 9				
Spektren	M ₁₀₀ n = 100	G I n = 100	G II n = 100	G VI n = 100
$\bar{g}$ (α, β konstant) % Ox.-Grad	100,1	100,6	-	3,3
s (α, β konstant) % Ox.-Grad	$\pm 0,62$	$\pm 2,42$	-	$\pm 0,88$
s _E (α, β variabel) % Ox.-Grad	$\pm 0,56$	$\pm 2,13$	$\pm 0,34$	$\pm 0,86$
s _{gt} (α, β konstant) % Ox.-Grad	-	-	$\pm 0,82$	-
Regressionsgerade g = a + bt	-	-	g = 47,65 - 0,04 t	-
r	-	-	- 0,933	-

Tabelle No. 5

V E R S U C H M O D E L L H A U T N o . H 11					
Spektren	M_{100} n = 100	G I n = 100	G II n = 100	G V n = 100	
$\bar{g}$ (α , β konstant) % Ox.-Grad	98,9	97,4	-	2,3	
s (α , β konstant) % Ox.-Grad	$\pm 0,7$	$\pm 1,96$	-	$\pm 0,12$	
s_E (α , β variabel) % Ox.-Grad	$\pm 0,65$	$\pm 1,89$	$\pm 1,52$	$\pm 1,51$	
s_{gt} (α , β konstant) % Ox.-Grad	-	-	$\pm 1,02$	-	
Regressionsgerade $g = a + bt$	-	-	$g = 18,9 - 0,06 t$	-	
r	-	-	- 0,85	-	

Tabelle No. 6

V E R S U C H M O D E L L H A U T No. H 12				
Spektren	M ₁₀₀ n = 100	G I n = 100	G III n = 100	G V n = 100
$\bar{g}$ (α, β konstant) % Ox.-Grad	100,0	101,5	-	- 3.0
s (α, β konstant) % Ox.-Grad	$\pm 0,91$	$\pm 2,51$	-	$\pm 0,16$
s _E (α, β variabel) % Ox.-Grad	$\pm 0,9$	$\pm 2,4$	$\pm 1,69$	$\pm 1,12$
s _{gt} (α, β konstant) % Ox.-Grad	-	-	$\pm 1,43$	-
Regressionsgerade g = a + bt	-	-	g = 56,7 - 0,21 t	-
r	-	-	- 0,97	-

für H 8 : $\bar{g} = 102,2 \%$ Sauerstoffsättigung und
 $s = \pm 1,85 \%$ Sauerstoffsättigung,
für H 9 : $\bar{g} = 100,6 \%$ Sauerstoffsättigung und
 $s = \pm 2,42 \%$ Sauerstoffsättigung,
für H 11: $\bar{g} = 97,4 \%$ Sauerstoffsättigung und
 $s = \pm 1,96 \%$ Sauerstoffsättigung,
für H 12: $\bar{g} = 101,5 \%$ Sauerstoffsättigung und
 $s = \pm 2,51 \%$ Sauerstoffsättigung.

Der durch β bewirkte, mögliche systematische Fehler ist hierbei aus H 8 mit $s_E = \pm 2,27 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 9 mit $s_E = \pm 2,13 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 11 mit $s_E = \pm 1,89 \%$ Sauerstoffsättigung und aus H 12 mit $s_E = \pm 2,4 \%$ Sauerstoffsättigung zu beschreiben.

Bei den desoxygenierten Modellhäuten sind die mittleren Oxygenierungsgrade und die Standardabweichungen aus H 8 G VI $\bar{g} = 5,8 \%$ Sauerstoffsättigung und $s = \pm 0,58 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 9 G VI $\bar{g} = 3,3 \%$ Sauerstoffsättigung und $s = \pm 0,88 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 11 G V $\bar{g} = 2,3 \%$ Sauerstoffsättigung und $s = \pm 0,12 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 12 G V $\bar{g} = - 3 \%$ Sauerstoffsättigung und $s = \pm 0,16 \%$ Sauerstoffsättigung. Die durch α bewirkte Standardabweichung des systematischen Fehlers ist aus H 8 G VI $s_E = \pm 0,22 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 9 G VI $s_E = \pm 0,86 \%$ Sauerstoffsättigung, aus H 11 G V $s_E = \pm 1,51 \%$ Sauerstoffsättigung und aus H 12 G V $s_E = \pm 1,12 \%$ Sauerstoffsättigung.

Für die errechneten Oxygenierungsgrade g in dem Bereich zwischen den Extremwerten muß eine Regressionsanalyse angewendet werden, da hier (Abbildung 35, 36, 37, 38) eine abfallende Gerade gefunden wurde. Die Gleichungen der entsprechenden Regressionsgeraden sind den Tabellen zu entnehmen. Die Streuung um die Regressionsgerade beträgt bei H 8 G II für eine Oxygenierung zwischen 20 - 33 % Sauerstoffsättigung $s_{gt} = \pm 0,49$ % Sauerstoffsättigung; die Standardabweichung für den möglichen systematischen Fehler aus $\tilde{\alpha}$ und β hat den Wert $s_E = \pm 0,21$ % Sauerstoffsättigung. Bei H 9 G II im Bereich zwischen 40 - 50 % Sauerstoffsättigung ist $s_{gt} = \pm 0,82$ % Sauerstoffsättigung und der systematische Fehler ist mit $s_E = \pm 0,34$ % Sauerstoffsättigung abzuschätzen. Bei H 11 G II im Bereich zwischen 10 - 20 % Sauerstoffsättigung wurde $s_{gt} = \pm 1,02$ % Sauerstoffsättigung errechnet, und der mögliche systematische Fehler aus $\tilde{\alpha}$ und β ist mit $s_E = \pm 1,52$ % Sauerstoffsättigung abzuschätzen. Aus H 12 G III, wo sich die Oxygenierung im Bereich zwischen 40 - 60 % Sauerstoffsättigung bewegt, findet sich $s_{gt} = \pm 1,43$ % Sauerstoffsättigung, und der systematische Fehler aus $\tilde{\alpha}$ und β zeigt hier die Vertrauensgrenzen von $s_E = \pm 1,69$ % Sauerstoffsättigung.

V DISKUSSION

1. Photometrie. Rapidspektroskop T 13/3 nach D. W. Lübbers und W. Niesel.

In den Experimenten zeigte das Rapidspektroskop T 13/3 nach D.W. Lübbers und W. Niesel eine ausreichend gute Wellenlängenkonstanz. Die geringfügigen Meßfehler aus dieser Ursache sind zu vernachlässigen. Bei der Bestimmung der fünf Wellenlängen aus den Küvettenpektren des volloxygenierten Hämoglobins durch eine einfache Suche der Extremwerte treten größere Streuungen auf. Diese sind auf Fehler bei der Messung der Extinktionen zurückzuführen. Bei dem flachen Extinktionsverlauf im Bereich der Extremwerte können kleine Schwankungen der Extinktionen schon relativ große Streuungen bei der Wellenlängenbestimmung bewirken. Eine zusätzliche Mittelung über Wellenlängen und Extinktionen erbringt eine bessere Reproduzierbarkeit der Wellenlängen. Wir haben diese über eine Parabelapproximation durchgeführt.

2. Modellhaut

Die bisherigen Untersuchungen zur Reflexionsphotometrie erfolgten an Versuchspersonen im Bereich der Haut der Fingerbeere (Matthes, K., 1942), des Ohrläppchens (Nielsson, N.J., 1956) oder einer Interdigitalfalte (Squire, I.R. 1940). Dabei ist eine vollständige Oxygenierung des Hämoglobins erreichbar, da die maximale Durchblutung der Haut nicht nutritiver Art ist, sondern dem Wärmeaustausch dient. Wenn die Haut unter hoher arterieller Sauerstoffspannung maximal durchblutet wird, senkt

die Sauerstoffaufnahme durch das Gewebe den Sauerstoffpartialdruck nicht unter 300 Torr (Huch, R., 1971; Huch, R., Lübbers, D.W., Huch, A., 1972). Die Oxygenierung des Hämoglobins ändert sich dabei nicht.

Eine Desoxygenierung des Blutes in den untersuchten Hautgefäßen zum Zweck methodischer Untersuchungen wurde auf unterschiedliche Weise durchgeführt. Buhr ließ die Probanden ein 6- bis 8 %iges Sauerstoffmangelgemisch atmen. Nielsson ließ bis zu 33 Sekunden lang reinen Stickstoff atmen. Dabei sinkt die Sauerstoffsättigung des Blutes nur auf 50 bis 70 % ab. Squire, Matthes und Nielsson erzeugten eine Stase des Blutes in der untersuchten Hautstelle. Als Folge der Atmung des umliegenden Gewebes konnten sie die mittlere Sauerstoffsättigung des Hämoglobins bis auf 32 % senken. In den Kapillaren soll dabei die Oxygenierung bis auf 0 % zurückgehen, was durch Blutgasanalyse gezeigt wurde. Aber das durchfallende Licht erfaßt Arteriolen und Venolen, die eine höhere Oxygenierung aufweisen; aus diesem Grund liegt die mittlere Sauerstoffsättigung bei höheren Werten.

Eigene Untersuchungen haben diese Auffassung bestätigt. Wir haben in 18 Versuchen durch eine dosierte venöse Stauung am Arm mittels einer Blutdruckmanschette den Blutstrom in den Kapillaren der Fingerbeere so weit verlangsamt, daß es zu einer deutlichen Sauerstoffentsättigung kam. Bei Staudruck bis fast zur Höhe des diastolischen Blutdrucks verfärbte sich die Haut an der Meßstelle bläulich, und wir konnten mit dem 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D.W. Lübbers aus

den entsprechenden Hautreflexionsspektren Oxygenierungsgrade bis herunter zu 30 % Sauerstoffsättigung errechnen. Direkt anschließend an die Registrierung der Hautspektren haben wir nach Stichinzision in die Meßstelle unter anaeroben Bedingungen Blut entnommen und den Oxygenierungsgrad dieses Blutes am Sauerstoffsättigungsmesser Typ OSM 1 der Firma Radiometer, Kopenhagen, bestimmt. Die niedrigsten Oxygenierungsgrade, die wir dabei messen konnten, lagen bei 75 % Sauerstoffsättigung. Dieser Unterschied zwischen den hohen Sauerstoffsättigungen des Blutes aus der Wunde und den niedrigen Sauerstoffsättigungen, die mit der Reflexionsphotometrie erhalten wurden, lassen sich durch die unterschiedlichen Erfassungsbereiche der beiden Methoden erklären. Bei der Blutentnahme nach Stichinzision in die bläulich verfärbte Haut bekamen wir überwiegend Blut, daß aus den angeschnittenen Arteriolen stammte und deshalb einen höheren Oxygenierungsgrad aufwies. Die niedrigen Oxygenierungsgrade, die wir mit der Reflexionsoxymetrie und der Auswertung nach dem 5-Wellenlängenverfahren berechnet haben, zeigten eine mittlere Sauerstoffsättigung an, die vorwiegend durch Mittelung längs der Kapillaren entstanden ist. Wenn wir nach der Stichinzision sofort eine Glaskappe auf die Haut aufsetzten und das austretende Blut durch das Glas mit unserem Verfahren untersuchten, erhielten wir dieselben hohen Oxygenierungsgrade wie am OSM 1.

Diese Untersuchungen zeigten auch, daß bei der Reflexionsphotometrie mit dem Rapiidspektroskop T 13/3 nach D.W. Lübbers und W. Niesel nur die oberflächlichen Hautschichten mit den Papillarkapillaren bis maximal 0,5 mm Tiefe erfaßt werden. Um die

durch einen unterschiedlichen Erfassungsbereich entstehenden Schwierigkeiten zu umgehen, haben wir für unsere Untersuchungen überlebende Leichenhaut mit Totenflecken verwendet, nachdem sich bei mehreren orientierenden Experimenten nachweisen ließ, daß Oxygenierung und Desoxygenierung möglich sind.

Ausgehend vom Zeitpunkt des Todes stellt sich das Oxygenierungsverhalten einer solchen Haut wie folgt dar:

Bei Eintritt des zentralen Kreislaufstillstandes entnimmt das überlebende Gewebe Sauerstoff aus dem Blut, das in den Kapillaren steht oder langsam der Schwere nach in die Kapillaren einfließt. Während dieser Zeit wird zwar eine geringe Menge Sauerstoff durch Diffusion von Luftsauerstoff in die Epidermis und Papillarschicht ersetzt, jedoch reicht diese Diffusion nicht aus, um bei Körpertemperatur von 37°C bis herunter zur Zimmertemperatur den Sauerstoffverbrauch zu kompensieren. Das Hämoglobin in den Papillarkapillaren wird desoxygeniert.

Durch Aufbewahrung des Gewebes im Kühlschrank wird der Sauerstoffverbrauch so weit gesenkt, daß die Sauerstoffdiffusion in die Haut höher ist als der Verbrauch. Außerdem verlagert sich die O_2 -Bindungskurve nach links. Das Hämoglobin wird oxygeniert. Im Versuch wird die Haut wieder erwärmt. Der ansteigende Sauerstoffverbrauch führt, wie oben beschrieben, zur Desoxygenierung des Hämoglobins.

Fraglich dabei ist, ob eine solche Behandlung der Modellhaut zu einer vollständigen Oxygenierung und Desoxygenierung führt. Dies wurde in zwei orientierenden Versuchen zum Oxygenierungsverhalten der "Modellhaut" geprüft.

Die oxygenierte Modellhaut hatte sich für 10 Stunden bei 6°C in reiner Sauerstoffatmosphäre befunden, so daß man mit einer vollständigen Aufsättigung des Hämoglobins rechnen kann. Nach Desoxygenierung durch Erwärmung wurden Sauerstoffpartialdrucke auf der Haut von 0 bis 3 Torr gefunden. Die Sauerstoffpartialdrucke wurden mit einer Ganzglaselektrode nach dem Clark'schen Prinzip, modifiziert nach U. Gleichmann und D.W. Lübbers (Gleichmann, U. und D.W. Lübbers, 1960), gemessen. Demnach vermag die noch vorhandene Gewebsatmung das Hämoglobin vollständig zu desoxygenieren. Dies wird durch die Form der Spektren bestätigt.

Für die Versuche mit Modellhaut ist die Sauerstoffsättigung $g = 100\%$ als Eichbedingung gegeben. Die Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ und β können bestimmt, und es kann die Reproduzierbarkeit der errechneten Oxygenierungsgrade geprüft werden. Bei allen Oxygenierungsgraden zwischen 0 bis 100% Sauerstoffsättigung läßt sich die Reproduzierbarkeit untersuchen. Zusätzlich ist es möglich, bei der desoxygenierten Modellhaut Aussagen über systematische Abweichungen zu machen. Der Einfluß der Temperatur auf die Größe des Extinktionskoeffizienten kann in diesem Temperaturbereich vernachlässigt werden.

3. Das 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D.W. Lübbers

Bei den Untersuchungen an vier Modellhäuten verschiedener Individuen ergaben sich unterschiedliche mittlere Eliminationskonstanten. Dabei reichte der Wert von $\beta = -0,2149$ bis $\beta = 0,4612$. Ähnliche Unterschiede zwischen den einzelnen Häuten waren auch für die Eliminationskonstante $\tilde{\alpha}$ erkennbar. Dies zeigt, daß je nach Ausprägung des Grundspektrums $S(\lambda)$ für jede Haut ein in-

dividuelles Paar Eliminationskonstanten zu erwarten ist, das durch eine In-vivo-Eichung bestimmt werden muß.

Die Eliminationskonstanten können nur mit einem Fehler bestimmt werden. Die Auswirkung dieses Fehlers auf die Berechnung des Oxygenierungsgrades konnte mit unserer Versuchsanordnung und -auswertung geprüft werden. Dabei zeigte sich, daß eine Veränderung von $\tilde{\alpha}$ und β in der Größenordnung des Fehlerbereichs, wie ihn unsere Meßanordnung vorgibt, den berechneten Oxygenierungsgrad durchaus beeinflußt. Bei der gegebenen Meßgenauigkeit sollte man daher bei der Eichung mehrere Eliminationskonstanten bestimmen, um diesen Fehler durch Mittelwertbildung kleinzuhalten.

Im Bereich niedriger Oxygenierungsgrade ist ein zusätzlicher systematischer Fehler möglich. Er wird verursacht durch die Bestimmung der extrapolierten Eliminationskonstanten $\tilde{\alpha}$ anstelle der wirklichen Eliminationskonstanten α . Bei der Berechnung von α ist das Grundspektrum der reduzierten Haut als Fehlerspektrum $S(\lambda)$ bei den Wellenlängen λ_1 bis λ_5 zugrundegelegt. Die Berechnung von $\tilde{\alpha}$ erfolgt an dem Spektrum der oxygenierten Haut unter der Annahme, daß $S(\lambda)$ an der Stelle λ_4 durch lineares Interpolieren zwischen λ_3 und λ_5 abzuschätzen ist.

Daß diese Annahme berechtigt ist, zeigt das Grundspektrum, das an der Leichenhaut empirisch bestimmt wurde. Daran ist zu sehen, daß man das diesem Grundspektrum entsprechende Fehlerspektrum $S(\lambda)$ angenähert wie eine Gerade behandeln kann. Der Fehler, den man bei der Bestimmung von $\tilde{\alpha}$ (mit systematischer Auswirkung auf die Berechnung niedriger Oxygenierungsgrade) begeht, kann nicht durch Mittelwertbildung verkleinert oder beseitigt werden. Er ist bei unseren Versuchen an der vollständig desoxygenierten Modellhaut etwas unterschiedlich und bewegt sich zwischen -3% und +5,8% Sauerstoffsättigung.

Die Eliminationskonstante $\tilde{\alpha}$ wirkt sich jedoch nur bei niedrigen Oxygenierungsgraden aus. Klinisch relevante, arterielle Hypoxien gibt es bis herunter zu 60% Sauerstoffsättigung (Buhr, G., 1960). Dabei würde der systematische Fehler aus $\tilde{\alpha}$ nur 40% der eben zitierten Werte ausmachen und läge zwischen -1,2% und +2,3% Sauerstoffsättigung.

Die Streuungen der Oxygenierungsgrade aus den aktuellen Messungen sind wieder von Haut zu Haut etwas unterschiedlich. Die größte Standardabweichung aus unseren Versuchen mit den vier Modellhäuten war $s = \pm 2,5\%$ Sauerstoffsättigung. Mit abnehmender Oxygenierung wurde die Streuung geringer. Bei vollständiger Desoxygenierung betrug die größte der berechneten Standardabweichungen $s = \pm 0,9\%$ Sauerstoffsättigung.

Andere Methoden und Meßgeräte liefern im oberen Sättigungsbereich vergleichbare Werte. Buhr (Buhr, G., 1960) hat die Ohroxymetrie mit der blutigen Oxymetrie verglichen. Das Meßgerät war dabei ein Atlas-Oxymeter EM 45 b, der Auswertung lag eine Eichung mit Kompensation der blutleeren Haut zugrunde. Die Ergebnisse beider Messungen zeigten bei Volloxygenierung eine mittlere Abweichung von $s = \pm 1,2\%$ Sauerstoffsättigung. Bei etwa 60% Sauerstoffsättigung fand sich eine mittlere Abweichung von $s = \pm 3,22\%$ Sauerstoffsättigung. Über ähnliche Werte hat auch Maaß (Maaß, H., 1960) berichtet.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß das neue 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübbers auch in der vereinfachten Anwendung den bisherigen Verfahren ebenbürtig ist. Es läßt sich aber auch noch bei niedriger Sauerstoffsättigung anwenden. Ein weiterer Vorteil ist, daß keine blutige Eichung nötig ist und daß die Eichung an der intakten Haut unter definierten Bedingungen durchgeführt wird. Definierte Bedingungen lassen sich leicht durch Sauerstoffatmung und Erwärmung der Haut herstellen, wodurch das Kapillarblut der Haut vollständig oxygeniert wird. Eine vollständige Desoxygenierung muß nicht mehr herbeigeführt werden. Die Grenzen des Verfahrens liegen in der heute möglichen Meßgenauigkeit der Photometer.

VI ZUSAMMENFASSUNG

R.Wodick und D.W.Lübbbers haben ein 5-Wellenlängenverfahren zur Bestimmung des intrakapillären Oxygenierungsgrades an der menschlichen Haut vorgestellt. Dieses neue Auswertverfahren ermöglicht die Oxymetrie durch die menschliche Haut unabhängig von der Hämoglobinkonzentration und -verteilung im Gewebe sowie unabhängig von überlagerten, wellenlängenabhängigen Störkomponenten.

Um dieses Verfahren zu testen, haben wir eine neue Prüfmöglichkeit an Präparaten von menschlicher Leichenhaut ausgearbeitet. Die "Modellhaut" besitzt noch die wesentlichen optischen Eigenschaften der lebenden Haut. In ihr kann man eine Oxygenierung und Desoxygenierung des Blutes durchführen. Aus diesem Grund ist sie für methodische, reflexionsoxymetrische Untersuchungen gut geeignet.

Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß das vereinfachte 5-Wellenlängenverfahren nach R.Wodick und D.W.Lübbbers im Bereich der vollen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins keine systematischen Fehler, im Bereich niedriger Sauerstoffsättigungen nur geringe systematischen Fehler aufweist. Diese systematischen Fehler entstehen dadurch, daß man die Eliminationskonstante $\tilde{\alpha}$ am oxygenierten Spektrum bestimmt, anstatt α am vollständig desoxygenierten Spektrum zu bestimmen. Es erweist sich als zweckmäßig, die Eliminations-

konstanten mehrfach zu bestimmen, um der Berechnung Mittelwerte zugrundelegen zu können.

Das 5-Wellenlängenverfahren nach R. Wodick und D. W. Lübberts hat gegenüber den bisherigen Verfahren den Vorteil, daß es sich im gesamten Sättigungsbereich anwenden läßt und damit auch quantitative Bestimmungen in niedrigen Sättigungsbereichen erlaubt.

ERKLÄRUNG DER SYMBOLE

A	Schwingungsamplitude des 50-Hz-Spiegels, siehe Kap. II, 2 a
a	Konstante
b	Konstante
c	Gesamtkonzentration des Hämoglobins,
$G(\lambda)$	gemessene Reflexionsspektren der Haut
G_i	Meßwerte der Reflexionsspektren
G_i^O	G_i für das desoxygenierte Spektrum
G_i^{100}	G_i für das oxygenierte Spektrum
g	Oxygenierungsgrad des Hämoglobins
$\bar{g}$	Mittelwert von berechneten Oxygenierungsgraden des Hb
$\bar{g}_E$	Mittelwert von Oxygenierungsgraden, die aus einem Spektrum mit verschiedenen Eliminationskonstanten errechnet wurden
H(M)	Transformation zwischen Küvetten- und Reflexionsspektren
M(λ)	multiplikativ gemischtes Küvettenpektrum
M_i	Meßwerte des Spektrums M(λ)
M_i^O	M_i für das desoxygenierte Spektrum
P	siehe Formel (11 b)
P_O	der Wert von P für das desoxygenierte Spektrum
P_{100}	der Wert von P für das oxygenierte Spektrum P^G
P^G	P für Werte des Spektrums G(λ)
P_O^G	P_O für Werte des Spektrums G(λ)
P_{100}^G	P_{100} für Werte des Spektrums G(λ)
P_O^M	P_O für Werte des Spektrums M(λ)
P_{100}^M	P_{100} für Werte des Spektrums M(λ)
Q	siehe Formel (11 a)

Q^G	Q für Werte des Spektrums $G(\lambda)$
Q_o	der Wert von Q für das desoxygenierte Spektrum
Q_{100}	der Wert von Q für das oxygenierte Spektrum
Q_o^G	Q_o für Werte des Spektrums $G(\lambda)$
Q_{100}^G	Q_{100} für Werte des Spektrums $G(\lambda)$
Q_o^M	Q_o für Werte des Spektrums $M(\lambda)$
Q_{100}^M	Q_{100} für Werte des Spektrums $M(\lambda)$
$S(\lambda)$	Störkomponente, siehe Formel (1)
S	Standardabweichung, siehe Kapitel III, 4
S_{gt}	Parameter der Streuung um die Regressionsgerade $g = a + b \cdot t$ (siehe Kapitel III, 4)
t	Zeit
T	Schwingungsperiode des 50-Hz-Spiegels
$\tilde{\alpha}$	Eliminationskonstante siehe Formel (21)
α	Eliminationskonstante siehe Formel (26)
β	Eliminationskonstante siehe Formel (16)
γ	Anteil des reflektierten Lichtes, welches ungeschwächt in den Empfänger gelangt
$\epsilon_1(\lambda)$	molare Extinktionskoeffizienten
$\epsilon_2(\lambda)$	des oxygenierten bzw. desoxygenierten Hämoglobins
θ_G	siehe Formel (28)
θ_M	siehe Formel (27)
λ	Wellenlänge

VII LITERATURVERZEICHNIS

Bachem, A.:

Die Lichtdurchdringung der menschlichen Haut.
Strahlentherapie 39, 30 - 56 (1931)

Buhr, G.:

Klinische Oxymetrie

In: Kramer, K. (Hrsg.): Oxymetrie, Theorie und klinische Anwendung, 30 - 53, Stuttgart: Thieme 1960

Gleichmann, U. und D. W. Lübbers:

Die Messung des Sauerstoffdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut.

Pflügers Arch. 271, 431 - 455 (1960)

Hilgermann, R.:

Histochemische Untersuchungen zur Frage der sogenannten Diffusions-Totenflecken.

Habilitationsschrift Humanmedizin, Marburg 1973

Horstmann, E.:

Anatomie der Haut und ihrer Anhangsorgane.

In: Gottron, H. A., W. Schönfeld (Hrsg.): Dermatologie und Venerologie Bd. I/1, 42 - 103, Stuttgart: Thieme 1961

Huch, R.:

Quantitative, kontinuierliche Sauerstoffpartialdruckmessung (Po₂-Messung) auf der hyperämisierten Erwachsenenhaut.

Dissertation Humanmedizin, Marburg 1971

Huch, R., D. W. Lübbers und A. Huch:

Quantitative continuous measurements of partial oxygen pressure on the skin of adults and new-born babies.

Pflügers Arch. 337, 185 - 198 (1972)

Letterer, E.:

Allgemeine Pathologie, S. 149, Stuttgart: Thieme 1959

Lübbers, D. W. und W. Niesel:

Der Kurzzeitspektralanalysator. Ein schnellarbeitendes Spektralphotometer zur laufenden Messung von Absorptions- bzw. Extinktionsspektren.

Pflügers Arch. 268, 286 (1959)

Lübbers, D. W. und R. Wodick:

Quantitative Analyse von Reflexionsspektren multiplikativer und additiver Gemische von Mehrkomponentensystemen mit überlagerter Störkomponente am Beispiel der menschlichen Haut.

Die Naturwissenschaften 9, 418 - 419 (1972)

Maaß, H.:

Zur Eichung des Oxymeters.

In: Kramer, K. (Hrsg.): Oxymetrie, Theorie und klinische Anwendung, 23 - 29, Stuttgart: Thieme 1960

Matthes, K.:

Untersuchungen über den Verlauf der Oxyhämoglobinreduktion in der menschlichen Haut.

Pflügers Arch. 246, 70 - 91 (1942)

Meyer-Seitz:

Ultraviolette Strahlen, Tafel 11

Walter de Gruyter Verlag & Co., Berlin 1949

Niesel, W., D. W. Lübbers, D., Schneewolf, J. Richter, W. Botticher:

Double beam spectrometer with 10 msec recording time.

Rev. sci. Instrum. 35, 578 - 581 (1964)

Nilsson, N. J.:

Ein linear anzeigendes Oxymeter.

Pflügers Arch. 263, 374 - 400 (1956)

Petersen, H.:

Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.

München: J. F. Bergmann 1935

Rottier, P. B.:

Ultraviolet radiation and skin: Some facts, some problems.

In: Proceedings of the First International Photobiological Congress, Amsterdam 1954, 192 - 203, Elsevier-Verlag

Siggaard-Andersen, O., K. Jørgensen und N. Noer^ø:

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, 298 (1962)

Spalteholz, W.:

Blutgefäße der Haut.

In: Jadassohn, J. (Hrsg.): Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. I/1, 379 - 433, Berlin: Springer 1927

Squire, I. R.:

Clin. Sci. 4, 331 - 339 (1940)

Wodick, R.:

Die Auswertung von Mehrkomponentensystemen der Kurzzeitspektrophotometrie.

Naturwiss. Dissertation, Marburg 1968

Wodick, R. und D. W. Lübbers:

Quantitative Analyse von Reflexionsspektren und anderen Spektren mit inhomogenen Lichtwegen an Mehrkomponentensystemen mit Hilfe der Queralyse I, II.

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 354, 903 - 922 (1973)

Wodick, R. und D. W. Lübbers:

Ein neues Verfahren zur Bestimmung des Oxygenierungsgrades von Hämoglobinspektren bei inhomogenen Lichtwegen, erläutert an der Analyse von Spektren der menschlichen Haut.

Pflügers Arch. 342, 41 - 60 (1973)

Dem Direktor des Max-Planck-Instituts für Systemphysiologie in Dortmund, Herrn Prof. Dr. D. W. Lübbers, bin ich dankbar für die Arbeitsmöglichkeiten an seinem Institut und für die Überlassung des Themas der Arbeit. Sein stetes Interesse am Fortgang der Untersuchungen, die zahlreichen wertvollen Diskussionen über die Ergebnisse und deren Darstellung haben die Fertigstellung dieser Arbeit erst ermöglicht.

Herrn Prof. Dr. Dr. R. Wodick danke ich für die Hilfe, die er mir bei der Einführung in das Gebiet der Photometrie angedeihen ließ.

Herrn Prof. Dr. Otto, dem Direktor des Pathologischen Instituts an den Städtischen Krankenanstalten Dortmund, und Herrn Priv.-Doz. Dr. Cornelius, dem Chefarzt des Pathologischen Instituts des Knappschaftskrankenhauses in Dortmund-Brackel danke ich. Ohne ihre freundliche Hilfe wären die Untersuchungen an Modellhaut nicht möglich gewesen.

Frau Dr. Seidl danke ich, daß sie mir ihre Erfahrung, auch auf dem Gebiet der Morphologie, zur Verfügung gestellt hat.

Frau Borrek und Herrn Teckhaus danke ich für die Hilfe bei den Berechnungen, Frau Thomas und Frau Zimpel für ihre technische Mitarbeit.

L e b e n s l a u f

Am 21. November 1941 wurde ich, Manfred Leeser, als Sohn der Eheleute Hubert Leeser und Emma Leeser, geborene Reichle, in Friedrichshafen am Bodensee geboren.

Nach Besuch der Grundschule wurde ich im Frühjahr 1952 in das Graf-Zeppelin-Gymnasium in Friedrichshafen eingeschult. Die Reifeprüfung legte ich im Frühjahr 1961 am Gymnasium in Wilhelmsdorf/Württemberg ab.

Im Sommersemester 1961 begann ich das Studium der Medizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen, das ich im Sommer 1967 mit dem Staatsexamen abschloß.

Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit am Pathologischen Institut der Universität Tübingen und am Kreiskrankenhaus Calw in den Fächern Pathologie, Innere Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe/Gynäkologie arbeitete ich von September 1969 bis Ende 1972 auf der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Calw als Assistenzarzt. Von Beginn 1973 bis Ende Juni 1975 war ich am Max-Planck-Institut für Systemphysiologie unter dem Direktor Prof. Dr. med. D. W. Lübbers in Dortmund als wissenschaftlicher Assistent tätig. Seit Juli 1975 arbeite ich wieder als Assistenzarzt an der Inneren Abteilung des St.-Josefs-Hospitals in Dortmund-Hörde.

Manfred Leeser



